

This Page Is Inserted by IFW Operations  
and is not a part of the Official Record

## **BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning documents *will not* correct images,  
please do not report the images to the  
Image Problem Mailbox.**

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

## PATENT COOPERATION TREATY

PCT

## NOTIFICATION OF ELECTION

(PCT Rule 61.2)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

United States Patent and Trademark  
Office  
(Box PCT)  
Crystal Plaza 2  
Washington, DC 20231  
ETATS-UNIS D'AMERIQUE

in its capacity as elected Office

Date of mailing: 03 September 1998 (03.09.98)	
International application No.: PCT/JP98/00799	Applicant's or agent's file reference: ONF-2578PCT
International filing date: 26 February 1998 (26.02.98)	Priority date: 27 February 1997 (27.02.97)
Applicant: TADA, Hideaki et al	

1. The designated Office is hereby notified of its election made:

☒ in the demand filed with the International preliminary Examining Authority on:  
12 August 1998 (12.08.98)☐ in a notice effecting later election filed with the International Bureau on:  
\_\_\_\_\_2. The election ☒ was☐ was not

made before the expiration of 19 months from the priority date or, where Rule 32 applies, within the time limit under Rule 32.2(b).

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland Facsimile No.: (41-22) 740.14.35	Authorized officer:  J. Zahra Telephone No.: (41-22) 338.83.38
---	---

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

## 特 許 協 力 条 約

PCT

## 国際予備審査報告

(法第12条、法施行規則第56条)

〔PCT36条及びPCT規則70〕

出願人又は代理人 の書類記号 ONF-2578PCT	今後の手続きについては、国際予備審査報告の送付通知(様式PCT/ IPEA/416)を参照すること。	
国際出願番号 PCT/JP98/00799	国際出願日 (日.月.年) 26.02.98	優先日 (日.月.年) 27.02.97
国際特許分類 (IPC) Int. Cl <sup>8</sup> C12N 15/12, C07K 14/47, C07K 14/52, C07K 14/705, C12N 1/19, C12N 1/21, A61K 38/17, A61K 39/395//C12P 21/02, C12P 21/08, (C12N 1/19, C12R 1:645), (C12N 1/21, C12R 1:19)		
出願人 (氏名又は名称) 小野薬品工業株式会社		

1. 国際予備審査機関が作成したこの国際予備審査報告を法施行規則第57条 (PCT36条) の規定に従い送付する。

2. この国際予備審査報告は、この表紙を含めて全部で 3 ページからなる。

☐ この国際予備審査報告には、附属書類、つまり補正されて、この報告の基礎とされた及び/又はこの国際予備審査機関に対してした訂正を含む明細書、請求の範囲及び/又は図面も添付されている。  
(PCT規則70.16及びPCT実施細則第607号参照)  
この附属書類は、全部で ページである。

3. この国際予備審査報告は、次の内容を含む。

I ☒ 国際予備審査報告の基礎II ☐ 優先権III ☐ 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての国際予備審査報告の不作成IV ☐ 発明の単一性の欠如V ☒ PCT35条(2)に規定する新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての見解、それを裏付けるための文献及び説明VI ☐ ある種の引用文献VII ☐ 国際出願の不備VIII ☐ 国際出願に対する意見

国際予備審査の請求書を受理した日 12.08.98	国際予備審査報告を作成した日 24.09.98	
名称及びあて先 日本国特許庁 (IPEA/JP) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官 (権限のある職員) 小暮 道明 印	4B 9637
電話番号 03-3581-1101 内線 3449		

THIS PAGE BLANK (USPTO)

## I. 国際予備審査報告の基礎

1. この国際予備審査報告は下記の出願書類に基づいて作成された。(法第6条(PCT14条)の規定に基づく命令に  
応答するために提出された差し替え用紙は、この報告書において「出願時」とする)

☒ 出願時の国際出願書類

- |                                |   |       |        |                      |
|--------------------------------|---|-------|--------|----------------------|
| <input type="checkbox"/> 明細書   | 第 | _____ | ページ、   | 出願時のもの               |
| 明細書                            | 第 | _____ | ページ、   | 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの |
| 明細書                            | 第 | _____ | ページ、   | _____ 付の書簡と共に提出されたもの |
| 明細書                            | 第 | _____ | ページ、   | _____ 付の書簡と共に提出されたもの |
| <br>                           |   |       |        |                      |
| <input type="checkbox"/> 請求の範囲 | 第 | _____ | 項、     | 出願時に提出されたもの          |
| 請求の範囲                          | 第 | _____ | 項、     | PCT19条の規定に基づき補正されたもの |
| 請求の範囲                          | 第 | _____ | 項、     | 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの |
| 請求の範囲                          | 第 | _____ | 項、     | _____ 付の書簡と共に提出されたもの |
| 請求の範囲                          | 第 | _____ | 項、     | _____ 付の書簡と共に提出されたもの |
| <br>                           |   |       |        |                      |
| <input type="checkbox"/> 図面    | 第 | _____ | ページ/図、 | 出願時に提出されたもの          |
| 図面                             | 第 | _____ | ページ/図、 | 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの |
| 図面                             | 第 | _____ | ページ/図、 | _____ 付の書簡と共に提出されたもの |
| 図面                             | 第 | _____ | ページ/図、 | _____ 付の書簡と共に提出されたもの |

2. 補正により、下記の書類が削除された。

- |                                |   |       |       |
|--------------------------------|---|-------|-------|
| <input type="checkbox"/> 明細書   | 第 | _____ | ページ   |
| <input type="checkbox"/> 請求の範囲 | 第 | _____ | 項     |
| <input type="checkbox"/> 図面    | 第 | _____ | ページ/図 |

3. ☐ この国際予備審査報告は、補充欄に示したように、補正が出願時における開示の範囲を越えてされたものと認められるので、その補正がされなかったものとして作成した。(PCT規則70.2(c))

4. 追加の意見(必要ならば)

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**



V. 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての法第12条（PCT35条(2)）に定める見解、それを裏付ける文献及び説明

1. 見解

新規性 (N)

請求の範囲 1-10 有  
請求の範囲 無

進歩性 (IS)

請求の範囲 1-10 有  
請求の範囲 無

産業上の利用可能性 (IA)

請求の範囲 1-10 有  
請求の範囲 無

2. 文献及び説明

請求の範囲 1-10 に記載された発明は国際調査報告に表示された文献及び当該発明に関連があると認められる文献に記載されておらず、かつ、それらの文献の記載を組み合わせることにより当業者にとって容易に発明できたものでもない。

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

EP



PCT

国際調査報告

(法8条、法施行規則第40、41条)  
[PCT18条、PCT規則43、44]

出願人又は代理人 の書類記号 ONF-2578PCT	今後の手続きについては、国際調査報告の送付通知様式(PCT/ISA/220)及び下記5を参照すること。	
国際出願番号 PCT/J P 98/00799	国際出願日 (日.月.年) 26.02.98	優先日 (日.月.年) 27.02.97
出願人(氏名又は名称) 小野薬品工業株式会社		

国際調査機関が作成したこの国際調査報告を法施行規則第41条(PCT18条)の規定に従い出願人に送付する。  
この写しは国際事務局にも送付される。

この国際調査報告は、全部で 2 ページである。

☐ この調査報告に引用された先行技術文献の写しも添付されている。

1. ☐ 請求の範囲の一部の調査ができない(第I欄参照)。

2. ☐ 発明の単一性が欠如している(第II欄参照)。

3. ☒ この国際出願は、ヌクレオチド及び/又はアミノ酸配列リストを含んでおり、次の配列リストに基づき国際調査を行った。

☒ この国際出願と共に提出されたもの

☐ 出願人がこの国際出願とは別に提出したもの

☐ しかし、出願時の国際出願の開示の範囲を越える事項を含まない旨を記載した書面が添付されていない

☐ この国際調査機関が書換えたもの

4. 発明の名称は ☒ 出願人が提出したものを承認する。

☐ 次に示すように国際調査機関が作成した。

5. 要約は ☒ 出願人が提出したものを承認する。

☐ 第III欄に示されているように、法施行規則第47条(PCT規則38.2(b))の規定により国際調査機関が作成した。出願人は、この国際調査報告の発送の日から1カ月以内にこの国際調査機関に意見を提出することができる。

6. 要約書とともに公表される図は、

第 \_\_\_\_\_ 図とする。 ☐ 出願人が示したとおりである。

☒ なし

☐ 出願人は図を示さなかった。

☐ 本図は発明の特徴を一層よく表している。

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

## A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl<sup>°</sup> C12N 15/12, C07K 14/47, C07K 14/52, C07K 14/705,  
C12N 1/19, C12N 1/21, A61K 38/17, A61K 39/395//C12P 21/02,  
C12P 21/08, (C12N 1/19, C12R 1:645), (C12N 1/21, C12R 1:19)

## B. 調査を行った分野

## 調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl<sup>°</sup> C12N 15/12, C07K 14/47, C07K 14/52, C07K 14/705,  
C12N 1/19, C12N 1/21, A61K 38/17, A61K 39/395, C12P 21/02,  
C12P 21/08

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

## 国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

GenBank/EMBL/DDBJ (GENETYX), BIOSIS (DIALOG),  
WPI (DIALOG)

## C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
PA	Blood, Vol. 90, No. 10, p. 310a, 1378(1997), A. Gotoh et al. "Stromal Cell derived factor-1 suppresses cytokine-induced adhesion to immobilized fibronectin through activation of G-coupled protein in human hematopoietic progenitor cells"	1-10
A	Journal of Cellular Biochemistry, Vol. 45, p. 273-278(1991), Peter Quesenberry et al. "Long-Term Marrow Cultures: Human and Murine Systems"	1-10

☐ C欄の続きにも文献が列挙されている。

☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

## \* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」先行文献ではあるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

15.05.98

国際調査報告の発送日

09.06.98

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号 100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

齊藤 真由美

4B

9637

電話番号 03-3581-1101 内線 3449



**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

3T  
09/13/85 276  
Translation  
16X1

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

1646

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

Applicant's or agent's file reference ONF-2578PCT	<b>FOR FURTHER ACTION</b> See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)	
International application No. PCT/JP98/00799	International filing date (day/month/year) 26 February 1998 (26.02.1998)	Priority date (day/month/year) 27 February 1997 (27.02.1997)
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC C12N 15/12, C07K 14/47, 14/52, 14/705, C12N 1/19, 1/21, A61K 38/17, 39/395 // C12P 21/02, 21/08, (C12N 1/19, C12R 1:645) (C12N 1/21, C12R 1:19)		
Applicant ONO PHARMACEUTICAL CO., LTD.		

1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.

2. This REPORT consists of a total of 3 sheets, including this cover sheet.

☐ This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT).

These annexes consist of a total of \_\_\_\_\_ sheets.

3. This report contains indications relating to the following items:

- I ☒ Basis of the report
- II ☐ Priority
- III ☐ Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- IV ☐ Lack of unity of invention
- V ☒ Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
- VI ☐ Certain documents cited
- VII ☐ Certain defects in the international application
- VIII ☐ Certain observations on the international application

RECEIVED  
FEB 08 2000

Date of submission of the demand 12 August 1998 (12.08.1998)	Date of completion of this report 24 September 1998 (24.09.1998)
Name and mailing address of the IPEA/JP	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**



# INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/JP98/00799

## I. Basis of the report

1. This report has been drawn on the basis of *(Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to the report since they do not contain amendments.)*:

- ☒ the international application as originally filed.
- ☐ the description, pages \_\_\_\_\_, as originally filed,  
 pages \_\_\_\_\_, filed with the demand,  
 pages \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_,  
 pages \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_.
- ☐ the claims, Nos. \_\_\_\_\_, as originally filed,  
 Nos. \_\_\_\_\_, as amended under Article 19,  
 Nos. \_\_\_\_\_, filed with the demand,  
 Nos. \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_,  
 Nos. \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_.
- ☐ the drawings, sheets/fig \_\_\_\_\_, as originally filed,  
 sheets/fig \_\_\_\_\_, filed with the demand,  
 sheets/fig \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_,  
 sheets/fig \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_.

2. The amendments have resulted in the cancellation of:

- ☐ the description, pages \_\_\_\_\_
- ☐ the claims, Nos. \_\_\_\_\_
- ☐ the drawings, sheets/fig \_\_\_\_\_

3. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).

4. Additional observations, if necessary:

RECEIVED  
FEB 08 2000

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

# INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/JP98/00799

## V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

### 1. Statement

Novelty (N)	Claims	1-10	YES
	Claims		NO
Inventive step (IS)	Claims	1-10	YES
	Claims		NO
Industrial applicability (IA)	Claims	1-10	YES
	Claims		NO

### 2. Citations and explanations

The inventions disclosed in claims 1-10 are neither disclosed in any of the documents cited in the ISR or any other documents considered to bear relation to said inventions, nor is it considered that a person skilled in the art could easily have invented said inventions by combining the disclosures in these documents.

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

## PATENT COOPERATION TREATY

## PCT

## INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

Translation

Applicant's or agent's file reference P 47027	<b>FOR FURTHER ACTION</b> See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)	
International application No. PCT/EP98/00799	International filing date (day/month/year) 13 February 1998 (13.02.1998)	Priority date (day/month/year) 17 February 1997 (17.02.1997)
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC B07C 5/02		
Applicant ELEXSO SORTIERTECHNIK GMBH		

1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.

2. This REPORT consists of a total of 5 sheets, including this cover sheet.

☐ This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT).

These annexes consist of a total of \_\_\_\_\_ sheets.

3. This report contains indications relating to the following items:

- I ☒ Basis of the report
- II ☐ Priority
- III ☐ Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- IV ☐ Lack of unity of invention
- V ☒ Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
- VI ☐ Certain documents cited
- VII ☒ Certain defects in the international application
- VIII ☐ Certain observations on the international application

Date of submission of the demand 11 September 1998 (11.09.1998)	Date of completion of this report 05 March 1999 (05.03.1999)
Name and mailing address of the IPEA/EP European Patent Office D-80298 Munich, Germany Facsimile No. 49-89-2399-4465	Authorized officer Blumenberg, C Telephone No. 49-89-2399-0

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

## INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/EP98/00799

## I. Basis of the report

1. This report has been drawn on the basis of (Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to the report since they do not contain amendments.):

- ☐ the international application as originally filed.
- ☒ the description, pages 1-5, as originally filed,  
pages \_\_\_\_\_, filed with the demand,  
pages \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_,  
pages \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_.
- ☒ the claims, Nos. 1-4, as originally filed,  
Nos. \_\_\_\_\_, as amended under Article 19,  
Nos. \_\_\_\_\_, filed with the demand,  
Nos. \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_,  
Nos. \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_.
- ☒ the drawings, sheets/fig 1/2-2/2, as originally filed,  
sheets/fig \_\_\_\_\_, filed with the demand,  
sheets/fig \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_,  
sheets/fig \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_.

2. The amendments have resulted in the cancellation of:

- ☐ the description, pages \_\_\_\_\_
- ☐ the claims, Nos. \_\_\_\_\_
- ☐ the drawings, sheets/fig \_\_\_\_\_

3. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).

4. Additional observations, if necessary:

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**



## INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/EP 98/00799

**V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement****1. Statement**

Novelty (N)	Claims	1-4	YES
	Claims		NO
Inventive step (IS)	Claims		YES
	Claims	1-4	NO
Industrial applicability (IA)	Claims	1-4	YES
	Claims		NO

**2. Citations and explanations**

1. The present application does not meet the requirements of PCT Article 33(3), since the subject matter of Claims 1-4 does not involve an inventive step.

**1.1.**

Concerning Claim 1:

Document WO-A-96/33929 represents the closest prior art and discloses all the features of Claim 1 except for the feature whereby the products to be selected are done so according to their colour values.

The above feature is disclosed in an obvious manner to a person skilled in the art by document EP-A-0 705 650 (column 4, lines 49-56). Claim 1 does not therefore involve an inventive step.

**1.2. Concerning Claim 2:**

The figures of WO-A-96/33929 discloses the feature of Claim 2.

**1.3. Concerning Claim 4:**

Figure 1 of EP-A-0 186 259 discloses the feature of Claim 4.

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

**INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT**

International application No.

PCT/EP 98/00799

1.4. Concerning to Claim 3:

The feature of Claim 3 pertains only to dimensions which a person skilled in the art would choose according to the circumstances in order to solve the problem of interest, without thereby being inventive.

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

**VII. Certain defects in the international application**

The following defects in the form or contents of the international application have been noted:

1. Contrary to PCT Rule 5.1(a)(ii), the description does not cite document WO-A-96/33929 nor the relevant prior art disclosed therein. Furthermore, the description should be consistent with the claims (PCT Rule 5.1(a)(iii)).
2. Independent Claim 1 is not drafted in the two-part form (PCT Rule 6.3(b)), yet in the present case the two-part form appears to be appropriate. Consequently, the features known in combination from the prior art (WO-A-96/33929) should be summarised in a preamble (PCT Rule 6.3(b)(i)) and the remaining features specified in a characterising part ((PCT Rule 6.3(b)(ii)).

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

PCT

国際予備審査報告

(法第12条、法施行規則第56条)  
[PCT36条及びPCT規則70]


REC'D 09 OCT 1998

WIPO

PCT

出願人又は代理人 の書類記号 ONF-2578PCT	今後の手続きについては、国際予備審査報告の送付通知(様式PCT/ IPEA/416)を参照すること。	
国際出願番号 PCT/J P 98/00799	国際出願日 (日.月.年) 26.02.98	優先日 (日.月.年) 27.02.97
国際特許分類 (IPC) Int. C1 <sup>*</sup> C12N 15/12, C07K 14/47, C07K 14/52, C07K 14/705, C12N 1/19, C12N 1/21, A61K 38/17, A61K 39/395//C12P 21/02, C12P 21/08, (C12N 1/19, C12R 1:645), (C12N 1/21, C12R 1:19)		
出願人 (氏名又は名称) 小野薬品工業株式会社		

1. 国際予備審査機関が作成したこの国際予備審査報告を法施行規則第57条 (PCT36条) の規定に従い送付する。
2. この国際予備審査報告は、この表紙を含めて全部で <u>3</u> ページからなる。  <input type="checkbox"/> この国際予備審査報告には、附属書類、つまり補正されて、この報告の基礎とされた及び/又はこの国際予備審査機関に対してした訂正を含む明細書、請求の範囲及び/又は図面も添付されている。 (PCT規則70.16及びPCT実施細則第607号参照) この附属書類は、全部で _____ ページである。
3. この国際予備審査報告は、次の内容を含む。  I <input checked="" type="checkbox"/> 国際予備審査報告の基礎 II <input type="checkbox"/> 優先権 III <input type="checkbox"/> 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての国際予備審査報告の不作成 IV <input type="checkbox"/> 発明の単一性の欠如 V <input checked="" type="checkbox"/> PCT35条(2)に規定する新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての見解、それを裏付けるための文献及び説明 VI <input type="checkbox"/> ある種の引用文献 VII <input type="checkbox"/> 国際出願の不備 VIII <input type="checkbox"/> 国際出願に対する意見

国際予備審査の請求書を受理した日 12.08.98	国際予備審査報告を作成した日 24.09.98	
名称及びあて先 日本国特許庁 (IPEA/J P) 郵便番号100-8915 東京都千代田区蔵が関三丁目4番3号	特許庁審査官 (権限のある職員)  小暮 道明 印 	4 B 9637
電話番号 03-3581-1101 内線 3449		

様式PCT/IPEA/409 (表紙) (1994年1月)

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**



## I. 国際予備審査報告の基礎

1. この国際予備審査報告は下記の出願書類に基づいて作成された。(法第6条(PCT 14条)の規定に基づく命令に  
応答するために提出された差し替え用紙は、この報告書において「出願時」とする)

☒ 出願時の国際出願書類

- |                              |              |                      |
|------------------------------|--------------|----------------------|
| <input type="checkbox"/> 明細書 | 第 _____ ページ、 | 出願時のもの               |
| <input type="checkbox"/> 明細書 | 第 _____ ページ、 | 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの |
| <input type="checkbox"/> 明細書 | 第 _____ ページ、 | _____ 付の書簡と共に提出されたもの |
| <input type="checkbox"/> 明細書 | 第 _____ ページ、 | _____ 付の書簡と共に提出されたもの |
- 
- |                                |            |                       |
|--------------------------------|------------|-----------------------|
| <input type="checkbox"/> 請求の範囲 | 第 _____ 項、 | 出願時に提出されたもの           |
| <input type="checkbox"/> 請求の範囲 | 第 _____ 項、 | PCT 19条の規定に基づき補正されたもの |
| <input type="checkbox"/> 請求の範囲 | 第 _____ 項、 | 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの  |
| <input type="checkbox"/> 請求の範囲 | 第 _____ 項、 | _____ 付の書簡と共に提出されたもの  |
| <input type="checkbox"/> 請求の範囲 | 第 _____ 項、 | _____ 付の書簡と共に提出されたもの  |
- 
- |                             |                |                      |
|-----------------------------|----------------|----------------------|
| <input type="checkbox"/> 図面 | 第 _____ ページ/図、 | 出願時に提出されたもの          |
| <input type="checkbox"/> 図面 | 第 _____ ページ/図、 | 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの |
| <input type="checkbox"/> 図面 | 第 _____ ページ/図、 | _____ 付の書簡と共に提出されたもの |
| <input type="checkbox"/> 図面 | 第 _____ ページ/図、 | _____ 付の書簡と共に提出されたもの |

2. 補正により、下記の書類が削除された。

- |                                |               |
|--------------------------------|---------------|
| <input type="checkbox"/> 明細書   | 第 _____ ページ   |
| <input type="checkbox"/> 請求の範囲 | 第 _____ 項     |
| <input type="checkbox"/> 図面    | 第 _____ ページ/図 |

3. ☐ この国際予備審査報告は、補充欄に示したように、補正が出願時における開示の範囲を越えてされたものと認められるので、その補正がされなかったものとして作成した。(PCT規則70.2(c))

4. 追加の意見(必要ならば)

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

V. 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての法第12条（PCT35条(2)）に定める見解、それを裏付ける文献及び説明

1. 見解

新規性 (N)

請求の範囲 1-10 有  
請求の範囲 無

進歩性 (IS)

請求の範囲 1-10 有  
請求の範囲 無

産業上の利用可能性 (IA)

請求の範囲 1-10 有  
請求の範囲 無

2. 文献及び説明

請求の範囲 1-10 に記載された発明は国際調査報告に表示された文献及び当該発明に関連があると認められる文献に記載されておらず、かつ、それらの文献の記載を組み合わせることにより当業者にとって容易に発明できたものでもない。

THIS PAGE BLANK (USPTO)



<b>(51) 国際特許分類6</b> C12N 15/12, C07K 14/47, 14/52, 14/705, C12N 1/19, 1/21, A61K 38/17, 39/395 // C12P 21/02, 21/08, (C12N 1/19, C12R 1:645) (C12N 1/21, C12R 1:19)	<b>A1</b>	<b>(11) 国際公開番号</b> <b>WO98/38304</b>  <b>(43) 国際公開日</b> 1998年9月3日(03.09.98)
<b>(21) 国際出願番号</b> PCT/JP98/00799  <b>(22) 国際出願日</b> 1998年2月26日(26.02.98)  <b>(30) 優先権データ</b> 特願平9/43143 1997年2月27日(27.02.97) JP  <b>(71) 出願人</b> (米国を除くすべての指定国について) 小野薬品工業株式会社 (ONO PHARMACEUTICAL CO., LTD.)[JP/JP] 〒541-0045 大阪府大阪市中央区道修町2丁目1番5号 Osaka, (JP) <b>(72) 発明者</b> : および <b>(75) 発明者 / 出願人</b> (米国についてのみ) 多田秀明(TADA, Hideaki)[JP/JP] 小西幹夫(KONISHI, Mikio)[JP/JP] 福島大吉(FUKUSHIMA, Daikichi)[JP/JP] 〒618-8585 大阪府三島郡島本町桜井3丁目1番1号 小野薬品工業株式会社 水無瀬総合研究所内 Osaka, (JP) <b>(74) 代理人</b> 弁護士 大家邦久、外(OHIE, Kunihisa et al.) 〒103-0013 東京都中央区日本橋人形町2丁目2番6号 堀口第2ビル7階 大家特許事務所 Tokyo, (JP)	<b>(81) 指定国</b> JP, KR, US, 欧州特許 (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).  添付公開書類 国際調査報告書	
<b>(54) Title: NOVEL POLYPEPTIDE, DNA ENCODING THE SAME AND USE THEREOF</b>  <b>(54) 発明の名称</b> 新規なポリペプチド、そのポリペプチドをコードするDNA、およびその用途  <b>(57) Abstract</b> A polypeptide produced by a human stroma cell line; a process for producing the same; a DNA encoding this polypeptide; a vector comprising this DNA; host cells transformed by this vector; an antibody against the above polypeptide; and pharmaceutical preparations containing the above polypeptide or antibody.		

ヒトストローマ細胞株が産生するポリペプチド、その製造方法、そのポリペプチドをコードするDNA、そのDNAからなるベクター、そのベクターで形質転換された宿主細胞、そのポリペプチドの抗体、およびそのペプチドまたは抗体を含有する薬学的組成物。

PCTに基づいて公開される国際出願のパンフレット第一頁に掲載されたPCT加盟国を同定するために使用されるコード (参考情報)

AL	アルバニア	FI	フィンランド	LT	リトアニア	SN	セネガル
AM	アルメニア	FR	フランス	LV	ラトヴィア	SZ	スワジランド
AT	オーストリア	GB	イギリス	MC	モナコ	TD	チャド
AZ	アゼルバイジャン	GE	ジョージア	MD	モルドバ	TG	トーゴ
BA	ボスニア・ヘルツェゴビナ	GR	ギリシャ	MG	マダガスカル	TM	トルクメニスタン
BB	バハマ	GN	ギニア	ML	マリ	TR	トルコ
BE	ベルギー	GW	ギニア・ビサウ	MN	モンゴル	TT	トリニダード・トバゴ
BG	ブルガリア	GU	グアム	MR	モーリタニア	UA	ウクライナ
BJ	ベナン	DE	ドイツ	MW	モザンビーク	UG	ウガンダ
BR	ブラジル	EL	ギリシャ	MX	メキシコ	US	米国
BY	ベラルーシ	IE	アイルランド	NE	ニジェール	UY	ウルグアイ
CC	中央アフリカ共和国	IS	アイスランド	NN	ノルウェー	VN	ベトナム
CF	中央アフリカ共和国	IT	イタリア	NO	ノルウェー	ZW	ジンバブエ
CH	スイス	JP	日本	NZ	ニュージーランド		
CI	コートジボワール	KE	ケニア	PL	ポーランド		
CM	カメルーン	KG	キルギス	PT	ポルトガル		
CN	中国	KR	韓国	RO	ルーマニア		
CU	キューバ	KZ	カザフスタン	RU	ロシア		
CY	キプロス	LC	セント・ルシア	SE	スウェーデン		
CZ	チェコスロヴァキア	LI	リヒテンシュタイン	SG	シンガポール		
DE	ドイツ	LU	ルクセンブルグ	SI	スロベニア		
DK	デンマーク	LL	リベリア	SK	スロバキア		
EE	エストニア	LS	レソト	SL	シエラレオネ		

## 明 細 書

新規なポリペプチド、そのポリペプチドをコードするDNA、およびその用途

5

## 技術分野

本発明は、ある種のヒストローマ細胞株が産生する新規なポリペプチドおよびそのポリペプチドをコードする塩基配列を有するDNAに関する。

さらに詳細に述べると、ある種のヒストローマ細胞株が産生するOAF 0 6 5  $\alpha$  およびOAF 0 6 5  $\beta$  (以下、併せてOAF 0 6 5 という。) と命名された新規なポリペプチド、それらポリペプチドの製造方法、それらポリペプチドをコードするDNA、それらDNAからなるベクター、それらベクターで形質転換された宿主細胞、それらポリペプチドの抗体、およびそれらポリペプチドまたは抗体を含有する薬学的組成物に関する。

15

## 背景技術

骨髓ストローマ細胞は、免疫系、造血系等の骨髓微小環境を形作り、それらの幹細胞の増殖分化誘導に欠かせない因子、例えば、IL-7、SCF、IL-11、M-CSF、G-CSF、GM-CSF、IL-6、TGF- $\beta$ 、LIF等の因子を産生、分泌していることが知られている。また、骨髓ストローマ細胞のあるものは、骨代謝に関与することが明かとなっている (Kenneth Dorshkind, Annu. Rev. Immunol., 8, 113-137, 1990 参照)。しかしながら、これまでに単離された因子群のみでは、ストローマ細胞の役割を完全に担うことができない。このことは、まだ単離されていない因子が存在することを示唆している。

25

## 発明の開示

本発明者らはこの点に注目し、ある種のストローマ細胞が産生している新規な因子 (ポリペプチド)、特に分泌蛋白質および膜蛋白質に着目してそれを見出す

べく、鋭意検討を行なった。

従来、ある特定のポリペプチドまたはそれをコードするDNAを得ようとする場合、組織や細胞培養液中に目的とする生物活性を確認し、次いでポリペプチドの単離精製を経て、遺伝子をクローニングする方法、あるいはその生物活性を指標として遺伝子を発現クローニングする方法が一般的に用いられていた。

しかし、生体内生理活性ポリペプチドは、多様な生物活性を有している場合が多いので、あるひとつの活性を指標にして遺伝子をクローニングした結果、それが既知のポリペプチドと同一であることが後になって判明するという事例が増えている。また、骨髄ストローマ細胞が産生する因子は殆どのものが微量しか産生されず、そのことが単離、精製および生物活性の確認を困難なものとしている。

近年、cDNAの作製技術やシーケンス技術は急速に発展し、大量のcDNAのシーケンスを迅速に行なうことができるようになった。そこでこれらの技術を利用して、様々な細胞や組織からcDNAライブラリーを作製し、ランダムにcDNAをクローニングして塩基配列を決定し、相当するポリペプチドを発現させた後、その生理機能を解析していくという方法が発展しつつある。この方法は、生化学的、遺伝子学的な解析を一切必要とせずに遺伝子をクローニングし、その塩基配列の情報を得ることができるという特徴を有しているが、目的とする遺伝子の発見は偶発的要素が大きい。

本発明者らは、これまで造血系や免疫系で働く増殖分化因子の遺伝子のクローニングを研究してきた。そして、増殖分化因子（例えば、各種サイトカイン等）のような分泌蛋白質やそのレセプターのような膜蛋白質（以下、これらをまとめて分泌蛋白質等と呼ぶ。）の大部分がそのN末端にシグナルペプチドと呼ばれる配列を有していることに着目して、シグナルペプチドをコードする遺伝子を効率的かつ選択的にクローニングする方法を鋭意検討した。その結果、動物細胞を用いて、シグナルペプチドの有無を簡単に検索できる方法（シグナルシーケンストラップ（SST）法）を見出した（特願平6-13951号参照）。さらに同じ概念のもとに、酵母を用いてさらに大量かつ簡便にシグナルペプチドをコードする遺



伝子を単離する方法（酵母 S S T 法）も開発された（米国特許第 5,536,637 号参照）。

本発明者らは S S T 法を用いて、骨髓ストローマ細胞が産生している新規な膜蛋白質およびそれをコードする DNA を見出すことに成功し、本発明を完成した。

- 5     アミノ酸配列データベースのスイスプロット（Swiss Prot Release 33）に登録されている既知のポリペプチドのアミノ酸配列を調査した結果、本発明のポリペプチド O A F 0 6 5 は未知であったが、I 型の膜蛋白質で細胞外領域に腫瘍壊死因子（Tumor necrosis factor : T N F）受容体ファミリーに共通する C y s リッチ領域を有することが判明した（図 1）。このことから、本発明のポリペプチドは T N F 受容体ファミリーに属する新規の膜蛋白質であることが示された。
- 10

#### 図面の簡単な説明

- 図 1 は本発明ポリペプチドである O A F 0 6 5 と他の T N F 受容体ファミリーのアミノ酸配列を比較した図である。図中、h T N F R 1 はヒト腫瘍壊死因子受容体 1 を表わし、h T N F R 2 はヒト腫瘍壊死因子受容体 2 を表わし、h N G F R はヒト神経成長因子受容体を表わし、h F a s はヒト F a s を表わす。
- 15

#### 発明の詳細な説明

本発明は、

- 20     (1) 配列番号 1 または 5 で示されるアミノ酸配列からなるポリペプチド、  
      (2) 前記 (1) に記載したポリペプチドをコードする DNA、  
      (3) 配列番号 2 または 6 で示される塩基配列を有する DNA、  
      (4) 配列番号 3 または 7 で示される塩基配列を有する DNA、  
に関する。

- 25     さらに詳しく述べると、本発明は実質的に純粋な形である配列番号 1 または 5 で示されるアミノ酸配列からなるポリペプチド、そのホモログ、その配列のフラグメントおよびそのホモログからなるポリペプチドに関する。

本発明はさらにそれらのポリペプチドをコードするDNAに関する。より具体的には、配列番号2、3、6または7で示される塩基配列を有するDNA、および配列番号2、3、6または7で示される塩基配列に選択的にハイブリダイズするフラグメントを有するDNAに関する。

- 5 実質的に純粋な形である配列番号1または5で示されるアミノ酸配列を有するポリペプチドとは、一般に生産時のポリペプチドの90%以上、例えば95、98または99%が配列番号1または5で示されるアミノ酸配列を有するポリペプチドであることを意味する。

- 10 配列番号1または5で示されるアミノ酸配列からなるポリペプチドのホモログとは、一般に少なくとも20個、好ましくは少なくとも30個、例えば40、60または100個の連続したアミノ酸領域で、少なくとも70%、好ましくは少なくとも80または90%、より好ましくは95%以上相同性であるものであり、そのようなホモログは、以後本発明のポリペプチドとして記載される。

- 15 さらに、配列番号1または5で示されるアミノ酸配列からなるポリペプチドのフラグメント、またはそれらのホモログのフラグメントとは、少なくとも10アミノ酸、好ましくは少なくとも15アミノ酸、例えば20、25、30、40、50または60アミノ酸部分を意味する。

- 20 配列番号2、3、6または7で示される塩基配列を有するDNAに選択的にハイブリダイズするDNAとは、一般に少なくとも20個、好ましくは少なくとも30個、例えば40、60または100個の連続した塩基配列領域で、少なくとも70%、好ましくは少なくとも80または90%、より好ましくは95%以上相同性であるものであり、そのようなDNAは、以後本発明のDNAとして記載される。

- 25 配列番号2、3、6または7で示される塩基配列を有するDNAのフラグメントとは、少なくとも10塩基、好ましくは少なくとも15塩基、例えば20、25、30または40塩基部分を意味し、そのようなフラグメントも本発明のDNAに含まれる。

さらに、本発明には、本発明のDNAからなる複製または発現ベクターが含まれる。ベクターとしては、例えば、ori領域と、必要により上記DNAの発現のためのプロモーター、プロモーターの制御因子などからなるプラスミド、ウィルスまたはファージベクターが挙げられる。ベクターはひとつまたはそれ以上の  
5 選択的マーカー遺伝子、例えばアンピシリン耐性遺伝子を含んでいてもよい。ベクターは、イン・ビトロ (in vitro) において、例えばDNAに対応するRNAの製造、宿主細胞の形質転換に用いることができる。

さらに、本発明には、配列番号2、3、6または7で示される塩基配列、またはそれらのオープンリーディングフレームを有するDNAを含む本発明のDNA  
10 を複製または発現させるためのベクターで形質転換された宿主細胞も含まれる。細胞としては、例えば細菌、酵母、昆虫細胞または哺乳動物細胞が挙げられる。

さらに、本発明には、本発明のポリペプチドを発現させるための条件下で、本発明の宿主細胞を培養することからなる本発明のポリペプチドの製造方法も含まれる。培養は、本発明のポリペプチドが発現し、宿主細胞より製造される条件下  
15 で行なわれることが好ましい。

本発明のDNAは、上記のようなベクターのアンチセンス領域に挿入することでアンチセンスRNAを製造することもできる。このようなアンチセンスRNAは、細胞中の本発明のポリペプチドのレベルを制御することに用いることもできる。

20 本発明は、本発明におけるポリペプチドのモノクローナルまたはポリクローナル抗体も含む。さらに本発明におけるポリペプチドのモノクローナルまたはポリクローナル抗体の製造方法も含む。モノクローナル抗体は、本発明のポリペプチド、またはその断片を抗原として用い、通常のハイブリドーマの技術により製造することができる。ポリクローナル抗体は、宿主動物（例えば、ラットやウサギ  
25 等）に本発明のポリペプチドを接種し、免疫血清を回収する通常の方法により製造することができる。

本発明には、本発明のポリペプチド、その抗体と薬学的に許容される賦形剤お

よび／または担体を含有する薬学的組成物も含まれる。

(1) の本発明のポリペプチドとしては、配列番号 1 または 5 で示されたアミノ酸配列を有するもの以外に、その一部が欠損したもの（例えば、配列番号 1 中、生物活性の発現に必須な部分だけからなるポリペプチド等）、その一部が他のアミノ酸と置換したもの（例えば、物性の類似したアミノ酸に置換したもの）、およびその一部に他のアミノ酸が付加または挿入されたものも含まれる。

よく知られているように、ひとつのアミノ酸をコードするコдонは 1 ～ 6 種類（例えば、M e t は 1 種類、L e u は 6 種類）知られている。従って、ポリペプチドのアミノ酸配列を変えることなく DNA の塩基配列を変えることができる。

(2) で特定される本発明の DNA には、(1) の配列番号 1 または 5 で示されるポリペプチドをコードするすべての塩基配列群が含まれる。塩基配列を変えることによって、ポリペプチドの生産性が向上することがある。

(3) で特定される DNA は、(2) で示される DNA の一態様であり、天然型配列を表わす。

(4) に示される DNA は、(3) で特定される DNA に天然の非翻訳部分を加えた配列を示す。

配列番号 3 で示される塩基配列を有する DNA の作製は、以下の方法に従って行なわれる。

はじめに酵母 S S T 法（米国特許第 5, 536, 637 号に記載）の概要について説明する。

サッカロマイセス・セレビシエ (*Saccharomyces cerevisiae*) などの酵母がショ糖またはラフィノースをエネルギー源や炭素源として利用するためにはインベルターゼを培地中に分泌しなければならない（インベルターゼはラフィノースをショ糖とメリビオースに、ショ糖をフルクトースとグルコースに分解する酵素である。）。また、数多くの既知の哺乳類のシグナルシーケンスは酵母のインベルターゼを分泌させ得ることが知られている。これらの知見から、酵母のインベルターゼの分泌を可能にする新規のシグナルシーケンスを哺乳類の c DNA ラ

イブラリーからラフィノース培地上での酵母の生育を指標にスクリーニングする方法として本方法は開発された。

翻訳開始点 A T G を削除した非分泌型のインベルターゼ遺伝子 S U C 2

(GENBANK accession No. V01311) を、酵母の発現ベクター (発現用プロモーター (A D H プロモーター) およびターミネーター (A D H ターミネーター) は A A H 5 プラスミド (Gammerer, Methods in Enzymol., 101, 192-201, 1983) 由来で、酵母複製起点は 2  $\mu$  o r i、酵母選択マーカーには T R P 1、大腸菌複製起点は C o l E 1 o r i、大腸菌薬剤耐性マーカーにはアンピシリンが使用されている。) に組み込んで酵母 S S T 用ベクター p S U C 2 を作製した。その S U C 2 遺伝子の上流に哺乳類の c D N A を組み込んで、酵母 S S T c D N A ライブラリーを調製した。このライブラリーを分泌型インベルターゼを欠損している酵母に形質転換した。組み込まれた哺乳類 c D N A がシグナルシーケンスをコードしている場合、酵母で発現されたインベルターゼに対しても分泌作用をもつと考えられ、その結果ラフィノース培地上での生育が可能となる。よって出現したコロニーから酵母を培養してプラスミドを調製し、インサート DNA の塩基配列を決定することによって、新規シグナルシーケンスの検索を迅速かつ容易にした。

酵母 S S T c D N A ライブラリーの作製は、

(1) 対象となる細胞より m R N A を単離し、特定の制限酵素 (酵素 I) サイトを連結したランダムプライマーを用いて二本鎖 DNA を合成し、

(2) 酵素 I とは異なる特定の制限酵素 (酵素 II) サイトを含むアダプターを連結して、酵素 I で消化した後、適当なサイズで分画し、

(3) 酵母発現ベクター内のシグナルペプチドを削除したインベルターゼ遺伝子の上流に得られた c D N A 断片を連結し、形質転換する工程よりなる。

各工程を詳しく説明すると、工程 (1) では、対象となる哺乳類の臓器や細胞株などより、必要により適当な刺激剤で刺激した後、公知の方法 (以下、公知の方法は特に記載がなければ Molecular Cloning (Sambrook, J., Fritsch, E. F.

および Maniatis, T. 著、Cold Spring Harbor Laboratory Press より 1989 年に  
発刊) または Current Protocol in Molecular Biology (F. M. Ausubel ら編、  
John Wiley & Sons, Inc. より発刊) に記載の方法に従って行なわれる。) に従  
って mRNA の単離が行なわれる。

- 5 対象となる細胞としては、H A S 3 0 3 (ヒト骨髓ストローマ細胞株：東京医  
科大学第一内科外山圭助教授、相沢信助手より供与。J. Cell. Physiol., 148,  
245-251, 1991 および Experimental Hematol., 22, 482-487, 1994 に記載) ま  
たは H U V E C (ヒトさい帯静脈血管内皮細胞：ATCC No. CRL-1730) が挙げられ  
る。ランダムプライマーを用いる二本鎖 c D N A の合成は公知の方法により行な  
10 われる。

アダプターに連結される制限酵素 (酵素 I) サイトと次の工程 (2) で用いら  
れる制限酵素 (酵素 II) サイトは、互いに異なるものであれば何を用いてもよ  
い。好ましくは、酵素 I として E c o R I、酵素 II としては X h o I が用いら  
れる。

- 15 工程 (2) では T 4 D N A ポリメラーゼで末端を平滑化し、酵素 II アダプ  
ターを連結した後、酵素 I で消化アガロース電気泳動 (A G E) により 3 0 0 ~ 8  
0 0 b p の c D N A を分画する。酵素 II は、前記したように酵素 I と異なるも  
のなら何でもよい。

- 20 工程 (3) は、酵母発現用プラスミドベクターに連結されたシグナルペプチド  
を削除したインペルターゼの遺伝子上流に (2) で得られた c D N A 断片を組  
み込んで大腸菌に形質転換する工程である。ここで酵母発現用プラスミドベク  
ターとしては種々のものが知られているが、例えば大腸菌内でも機能する Y E p 2  
4 などが用いられる。好適には前述したプラスミド p S U C 2 が用いられる。

- 25 形質転換のための宿主大腸菌株はすでに多くのものが知られており、好ましく  
は D H 1 0 B のコンピテントセルである。また形質転換方法は公知のいずれを用  
いてもよいが、好ましくはエレクトロポレーション法により行なわれる。形質転  
換体は常法により培養され、酵母 S S T 用の c D N A ライブラリーが得られる。

このcDNAライブラリーは、すべてのクローンが該断片を含んでいる訳ではないし、またすべてが未知の（新規の）シグナルペプチドをコードする遺伝子断片とは限らない。そこで、次に該ライブラリーから未知のシグナルペプチドをコードする遺伝子断片をスクリーニングする必要がある。

- 5      すなわち、cDNAライブラリーをインベルターゼ遺伝子をもたない酵母サッカロマイセス・セレビシエ (*Saccharomyces cerevisiae*)（例えば、Y T 4 5 5 株など）またはインベルターゼ遺伝子を人為的に欠損させた株（公知の方法に従い作製可能）を用いることができる。酵母の形質転換は公知の方法、例えば酢酸リチウム法によって行なわれる。形質転換体を選択培地で生育後、ラフィノース
- 10      を炭素源とする培地に移し、生育可能なコロニーを選択し、プラスミドを回収する。ラフィノースを炭素源として酵母が生育したということは、ライブラリー中に何らかの分泌蛋白質のシグナルペプチドが組み込まれていたことを示している。

- 次に、単離した陽性クローンについて、塩基配列を決定し、未知の蛋白質をコードすることが明らかになったcDNAについては、それをプローブとして全長
- 15      クローンを単離し、全長の塩基配列を決定することができる。これらの操作は、当業者にとってすべて公知の方法で行なわれる。

- 配列番号2、3、6または7で示される塩基配列が、一部、好ましくは全てが確定されると哺乳類に存在する本発明のポリペプチドをコードするDNAもしくは本発明ポリペプチドのホモログおよびサブセットをコードするDNAを得る
- 20      ことができる。適当な塩基配列を有するオリゴヌクレオチドを合成し、それを用いて哺乳類由来のcDNAライブラリーあるいはmRNAからPCR法により、あるいは適当な塩基配列の断片をプローブとしてハイブリダイズさせることにより、他の哺乳類cDNAライブラリーあるいは該ゲノムライブラリーから、他の哺乳類型の当該ポリペプチドをコードするDNAを得ることができる。

- 25      このようにして得られたcDNAが、SSTで得られたcDNA断片の塩基配列（またはその相同配列）を含んでいるならばシグナルシーケンスをコードしていることになるので、該cDNAが全長、またはほぼ全長であることは明らか

である（シグナルシーケンスは例外なく蛋白質のN末端に存在することから、cDNAのオープンリーディングフレームの5'末端にコードされている。）。

さらに、公知の方法に従い該cDNAをプローブとしてノザン（Northern）解析によって全長の確認ができる。ハイブリダイズしたバンドから得られるmRNAのサイズと該cDNAのサイズを比較し、ほぼ同じであれば該cDNAはほぼ全長であると考えられる。

配列番号2、3、6または7で示される塩基配列が一旦確定されると、その後は、化学合成によって、あるいは該塩基配列の断片を化学合成し、これをプローブとしてハイブリダイズさせることにより、本発明のDNAを得ることができる。

10 さらに、本DNAを含有するベクターDNAを適当な宿主に導入し、これを増殖させることによって、目的とするDNAを必要量得ることができる。

本発明のポリペプチドを取得する方法としては、

- (1) 生体または培養細胞から精製単離する方法、
  - (2) ペプチド合成する方法、または
  - 15 (3) 遺伝子組み換え技術を用いて生産する方法、
- などが挙げられるが、工業的には(3)に記載した方法が好ましい。

遺伝子組み換え技術を用いてポリペプチドを生産するための発現系（宿主-ベクター系）としては、例えば、細菌、酵母、昆虫細胞および哺乳動物細胞の発現系が挙げられる。

20 例えば、大腸菌で発現させる場合には、成熟蛋白部分をコードするDNAの5'末端に開始コドン（ATG）を付加し、得られたDNAを、適当なプロモーター（例えば、trpプロモーター、lacプロモーター、λPLプロモーター、T7プロモーター等）の下流に接続し、大腸菌内で機能するベクター（例えば、pBR322、pUC18、pUC19等）に挿入して発現ベクターを製作する。

次に、この発現ベクターで形質転換した大腸菌（例えば、E. Coli DH1、E. Coli JM109、E. Coli HB101株等）を適当な培地で培養して、その菌



体より目的とするポリペプチドを得ることができる。また、バクテリアのシグナルペプチド（例えば、p e l Bのシグナルペプチド）を利用すれば、ペリプラスム中に目的とするポリペプチドを分泌することもできる。さらに、他のポリペプチドとのフュージョン・プロテイン（fusion protein）を生産することもできる。

- 5       また、哺乳動物細胞で発現させる場合には、例えば、配列番号3または7で示される塩基配列をコードするDNAを適当なベクター（例えば、レトロウイルスベクター、パピローマウイルスベクター、ワクシニアウイルスベクター、SV40系ベクター等）中の適当なプロモーター（例えば、SV40プロモーター、LTRプロモーター、メタロチオネインプロモーター等）の下流に挿入して発現ベクターを作製する。次に、得られた発現ベクターで適当な哺乳動物細胞（例えば、
- 10       サルCOS-7細胞、チャイニーズハムスターCHO細胞、マウスL細胞等）を形質転換し、形質転換体を適当な培地で培養することによって、その細胞膜上に目的とするポリペプチドが発現される。さらに配列番号3または7で示される塩基配列をコードするDNAの膜貫通領域を欠いた欠失体を上記ベクターに挿入し、
- 15       これを用いて適当な哺乳動物細胞を形質転換することによって、その培養液中に目的とする可溶性ポリペプチドが分泌される。以上のようにして得られたポリペプチドは、一般的な生化学的方法によって単離精製することができる。

#### 産業上の利用可能性

- 20       本発明のポリペプチドOAF065はTNF受容体ファミリーに属する一群の蛋白質と有意な相同性を示した。TNF受容体ファミリーに属する蛋白質は細胞外ドメインに6つのCys残基を含む繰り返し構造を3～6つもつI型の膜蛋白質で、そのリガンドとの相互作用により、様々な細胞の増殖、分化、細胞死といった現象に関わっていることが明らかとなっている（Craig A. Smith et. al.,
- 25       Cell, 76, 959-962, 1994）。

例えば、神経成長因子（NGF）受容体／NGFは各種の神経系の細胞の生存維持、神経突起の伸長、神経伝達物質の合成促進に必須である（Chao M. V., J.

Neurobiol., 25, 1373-1385, 1994)。F a s / F a s Lはそのアポトーシス誘導活性を介して癌細胞の破壊や自己反応性リンパ球の除去といった生体の恒常性維持に必須であるとともに、A I D SにおけるC D 4陽性T細胞の減少、劇症肝炎、移植後の移植片対宿主（G V H D）、各種の自己免疫疾患の発症に関与している（Nagata S. et. al. Science, 267, 1449-1456, 1995）。C D 4 0 / C D 4 0 LはT / B細胞間相互作用を介してB細胞の活性化（増殖および抗体産生促進）に必須である（Banchereau J. et. al. Annu. Rev. Immunol., 12, 881-922, 1994）。T N F受容体 / T N Fおよびリンホトキシン（L T）受容体 / L Tは各種免疫・造血細胞の増殖、活性化、分化誘導、腫瘍細胞の細胞障害、増殖抑制、各種結合組織（血管内皮細胞、線維芽細胞、骨芽細胞等）の増殖、活性化、ウィルス増殖抑制等の作用を有するとともに、リンパ組織の形態あるいは器官形成にも必須である（Ware C. F. et al. Curr. Topics Microbiol. Immunol., 198, 175-218, 1995）。

本発明のポリペプチドも細胞外ドメインにC y sの繰り返し構造が3ヵ所存在することから、新規のT N F受容体ファミリーに属する蛋白質であり、既知または未知のT N Fファミリーに属するリガンドを介して作用することは明白である。したがって、本発明のポリペプチドおよびそれをコードするc D N Aは、造血・免疫・神経系細胞の分化、増殖、成長、生存維持または細胞死、免疫系の機能、腫瘍の増殖、成長あるいは炎症、骨代謝等に関連した一つまたはそれ以上の効果あるいは生物活性（以下に列挙するアッセイに関連するものを含む）を示すことが考えられる。本発明のポリペプチドに関して記述される効果あるいは生物活性は、そのポリペプチドの投与あるいは使用により、あるいはそのポリペプチドをコードするc D N Aの投与あるいは使用（例えば、遺伝子治療やc D N A導入に適したベクター）により提供される。

#### （1）サイトカイン活性および細胞増殖／分化活性

本発明のポリペプチドは、サイトカイン活性および細胞増殖（誘導あるいは阻害）／分化活性（誘導あるいは阻害）を示す可能性、あるいはある細胞集団に他

のサイトカインの産生を誘導あるいは抑制すると考えられる。全ての既知のサイトカインを含む、現在発見されている多くの蛋白性因子は、因子に依存した一つあるいはそれ以上の細胞増殖アッセイ法で、活性を示してきたので、それらのアッセイは、サイトカイン活性の便利な確認法として機能する。本発明のポリペプチドの活性は、多くの従来の因子依存性の細胞株の細胞増殖アッセイのうちのいずれかによって証明され得る。

## (2) 免疫刺激／抑制活性

本発明のポリペプチドは、免疫刺激活性および免疫抑制活性を示すと考えられる。また、本発明のポリペプチドは、例えばTリンパ球およびBリンパ球あるいはどちらか一方の成長および増殖を制御（刺激あるいは抑制）することや、同様にNK細胞や他の集団の細胞傷害性活性に影響を与えることによって、様々な免疫不全および疾患（severe combined immunodeficiency（SCID）を含む）の治療に効果を示すと考えられる。これらの免疫不全は遺伝性である場合もあるし、（例えばHIVのような）ウィルスや、同様に細菌やカビの感染が原因で起こる場合もある。あるいは、自己免疫疾患から由来する可能性もある。より特殊な場合に、HIV、肝炎ウィルス（hepatitis viruses）、ヘルペスウィルス（herpes viruses）、マイコバクテリア（mycobacteria）、リーシュマニア（leishmania）、マラリア（malaria）およびカンジダ（candida）のような様々なカビ感染を含むウィルス、細菌、カビあるいは他の感染による感染症の原因を、本発明のポリペプチドを用いることによって治療できると考えられる。もちろん、この関連より、本発明のポリペプチドは、免疫システムが増大していることが一般的に示唆される場所、すなわち癌治療の箇所において効果を示すと考えられる。

本発明のポリペプチドは、アレルギー反応および喘息や他の呼吸器系疾患のような状況の治療にも効果を示すと考えられる。免疫抑制が望まれるような他の状態（例えば、喘息や関連呼吸器疾患を含む。）にも、本発明のポリペプチドを用いて治療できると考えられる。

本発明のポリペプチドは、例えば（敗血病性のショックあるいは全身性炎症反

応症候群（SIRS）のような）感染、炎症性大腸炎、クローン病、あるいは（IL-11により証明された効果のような）TNFやIL-1のようなサイトカインの過剰産生から由来するような感染に関連した慢性あるいは急性の炎症を抑制する可能性もある。

5      (3) 造血細胞制御活性

本発明のポリペプチドは、造血細胞の制御に、またそれに応じて骨髓球様細胞あるいはリンパ球様細胞の欠乏に対する治療にも効果を示すと考えられる。コロニー形成細胞あるいは因子依存性細胞株の援助の下での極く弱い生物活性でさえも、造血細胞の制御に係わることを示唆する。その生物活性とは、次に挙げる例  
10      の全てあるいはそのいずれかで例えられるようなものに係わるものである。赤血球前駆細胞のみの（成長および）増殖を支持、あるいは他のサイトカインとの組み合わせ、また、それが示唆する有効性、例えば様々な貧血の治療、あるいは赤血球前駆細胞および赤血球あるいはそのどちらかの産生を刺激する放射線療法／化学療法と組み合わせての使用；顆粒球および単球／マクロファージのような骨髓球の（成長および）増殖を支持（すなわち、古典的なCSF活性）、化学療法に伴う骨髓抑制を防ぐための化学療法との併用；巨核球の（成長および）増殖およびそれに続く血小板の（成長および）増殖の支持、それによって血小板減少症のような様々な血小板障害を防御および治療を可能とする血小板輸血の際あるいは相補的な一般的使用；前記造血細胞の幾つかあるいは全ての細胞へ成熟可能な  
15      造血幹細胞の（成長および）増殖の支持、従って、様々な幹細胞障害（限定はされないが、再生不良性貧血および発作性夜間血色素尿症を含む、移植で一般的に治療されるようなもの）に治療的効果を見い出せる、また、正常細胞あるいは遺伝子療法のため遺伝的に操作された細胞をイン・ビトロ（in vitro）あるいはエキソ・ビボ（ex vivo）（すなわち、骨髓移植に伴う）どちらかで、放射線療法  
20      ／化学療法後の幹細胞分画の再構築を行うことも同様である。

本発明のポリペプチドは、他の方法の中で、以下の方法により測定することが可能である。

#### (4) 組織生成／修復活性

本発明のポリペプチドは、損傷治癒および組織修復、また、火傷、切開、および潰瘍の治療と同様に、骨、軟骨、腱、靱帯、および神経組織成長あるいは再生のいずれかに使用されると考えられる。

- 5 骨を正常に形成しない環境での軟骨および骨あるいはいずれかの成長を誘導するような本発明のポリペプチドは、ヒトおよび他の動物の骨折および軟骨損傷あるいは欠損の治癒に適用される。また、本発明のポリペプチドを使用する製剤は、開放骨折と同様に閉鎖骨折の整復、また人工関節の固定の改良や、予防的使用にも有効であると考えられる。骨形成剤により誘導された新生骨形成は、先天性、  
10 外傷性、癌切除術により誘発した頭蓋顔面の欠損の修復に貢献する。また、美容形成外科分野にも有効である。

- 本発明のポリペプチドは、歯根膜症の治療および他の歯の修復にも使用されると考えられる。そのような薬品は、骨形成細胞を引き寄せ、その細胞の増殖を刺激し、その前駆細胞の分化を誘導する環境を提供すると考えられる。本発明のポリペプチドは、骨および軟骨あるいはいずれかの修復を刺激することを通して、  
15 あるいは、炎症あるいは炎症過程で介される組織破壊（コラゲナーゼ活性や破骨細胞の活性）の過程を阻止することにより、骨粗鬆症および骨関節炎の治療に有効であると考えられる。

- 本発明のポリペプチドに起因すると考えられる組織再生活性の別のカテゴリー  
20 は腱／靱帯形成である。本発明のポリペプチドは、腱／靱帯様組織あるいは他の組織が正常に形成されない環境でそのような組織形成を誘導するものであるが、ヒトおよび他の動物における腱／靱帯の裂傷、奇形、および他の腱／靱帯の障害の治療に適用できる。腱／靱帯様組織を誘導するポリペプチドを使用する製剤は、骨あるいは他の組織への腱／靱帯の固定の改良、および腱／靱帯組織の欠損の修復  
25 での使用はもちろん、腱あるいは靱帯の損傷の防御に対する予防的使用も考えられる。本発明の構成物により誘導された新生腱／靱帯様組織形成は、先天性、外傷、あるいは他の起源の腱あるいは靱帯欠損の修復に貢献する。また、腱ある

いは靱帯の貼付あるいは修復という美容形成外科でも有効である。本発明の構成物は、靱帯／靱帯形成細胞を引き寄せ、その細胞の増殖を刺激し、その前駆細胞の分化を誘導する環境を提供すると考えられる。あるいは、組織修復を果たすためイン・ビボ (in vivo) への返還に備えてエキソ・ビボ (ex vivo) で靱帯細胞あるいはその前駆細胞を誘導する。本発明の構成物は、靱帯炎、手根トンネル症候群 (Carpal tunnel syndrome)、および他の靱帯あるいは靱帯欠損の治療にも有効である。本発明の構成物には、適当なマトリックスおよびキャリアーと同様に当業者に良く知られている錯化 (Sequestering) 剤も含まれる。

本発明のポリペプチドは、神経細胞の増殖、および、神経および脳組織の再生、すなわち、神経細胞あるいは神経組織に対する変性、死、あるいは外傷を含む機械的および外傷的障害と同様に中枢および末梢神経系疾患および神経病の治療に対しても、効果を示すと考えられる。より特異的には、本発明のポリペプチドは、末梢神経障害、末梢神経症、および局所的神経症のような末梢神経系の疾患、およびアルツハイマー病、パーキンソン病、ハンチントン病、筋萎縮性側索症 (amyotrophic lateral)、およびシャイドレーガー (Shy-Drager) 症候群のような中枢神経系の疾患の治療に有効であると考えられる。さらに本発明に応じて治療され得る条件には、脊髄障害、頭部外傷、および脳卒中等の脳血管疾患のような機械的および外傷的障害を含む。化学療法あるいは他の治療から起因する末梢神経症も本発明のポリペプチドを用いて治療可能である。

本発明のポリペプチドは、(例えば脾臓、肝臓、腸、腎臓、皮膚、内皮を含めた) 臓器、(平滑、骨格あるいは心臓) 筋肉、および(血管内皮を含めた) 血管組織のような他の組織を生成する活性、あるいはそのような組織を構成する細胞の増殖を促進する活性を示す可能性も期待される。望まれる効果の一部は、正常組織を再生させる繊維性瘢痕 (scarring) の阻害によっても担われると考えられる。

本発明のポリペプチドは、消化管保護あるいは再生、および肺あるいは肝臓の繊維化、様々な組織の再還流損傷、および全身性サイトカイン障害に起因する状

態に対する治療にも有効であると考えられる。

(5) アクチビン／インヒビン活性

本発明のポリペプチドは、アクチビン／インヒビンに関連した活性を示すと考えられる。アクチビンは濾胞刺激ホルモン (F S H) の放出を刺激する活性によって特徴づけられるが、インヒビンは、濾胞刺激ホルモン (F S H) の放出を阻害する活性によって特徴づけられる。よって、本発明のポリペプチドは、単独あるいはインヒビン a ファミリーのメンバーとのヘテロダイマーで、哺乳類動物の雌の受精率を減少させ、雄の精子形成を減少させるインヒビンの活性に基づく避妊調節剤として有効であると考えられる。充分量の他のインヒビンの投与によって、哺乳動物の不妊を誘導可能である。一方、本発明のポリペプチドは、インヒビン b グループの他の蛋白質サブユニットとのホモダイマーあるいはヘテロダイマーで、前脳下垂体の細胞から F S H の放出を刺激するアクチビン分子の活性に基づいた治療的な不妊誘導として有効であると考えられる (米国特許第 4,798,885 号を参照)。本発明のポリペプチドは、牛、羊、および豚のような家畜の生涯出産能力可能な期間を延ばすために、性的に未熟な哺乳類動物における妊娠開始を早めることに有効であると考えられる。

(6) 走化性／化学運動性活性

本発明のポリペプチドは、例えば、単球、好中球、T細胞、マスト細胞、好酸球、および内皮細胞、あるいはそのいずれかを含む、哺乳動物の細胞に対して (例えば、ケモカインとして働く) 走化性／化学運動性蛋白質を有すると考えられる。走化性／化学運動性蛋白質は、反応の望まれる部位へ、望まれる細胞集団を固定化あるいは引き寄せるため使用されることが可能である。走化性／化学運動性蛋白質は、局所的な感染と同様に、創傷および他の外傷の治療に特別な優位性を提供する。例えば、リンパ球、単球、あるいは好中球を腫瘍あるいは感染部位へ引き寄せることは、腫瘍あるいは感染部位に対する免疫応答を改善する結果となると考えられる。

蛋白質やペプチドは、もしそれが直接あるいは間接的に特殊な細胞集団に対し

て指示された方向あるいは運動を刺激可能であれば、そのような細胞集団に対する走化性活性を保持している。望ましくは、その蛋白質やペプチドは、細胞の指示された運動を直接的に刺激する活性を保持する。特別な蛋白質がある集団の細胞に対し走化性活性を保持するか否かは、どんな既知の細胞走化性のアッセイ法

5 にそのような蛋白質あるいはペプチドを使用しても容易に決定できる。

#### (7) 凝血および血栓活性

本発明のポリペプチドは、凝血あるいは血栓活性も示すと考えられる。結果として、そのような蛋白質は、様々な凝固障害（血友病のような遺伝性障害を含む。）の治療に有効であると期待される。あるいは、外傷、手術または他の原因

10 により生じた創傷の治療における凝固および他の凝血事象を促進させることが期待される。本発明のポリペプチドは、血栓の形成の溶解あるいは阻害（血栓あるいは卒中等）、およびそれより生じる状態の治療および予防にも効果があると考えられる。

#### (8) 受容体／リガンド活性

15 本発明のポリペプチドは、受容体、受容体／リガンドあるいは受容体／リガンドのインヒビターあるいはアゴニストとしての活性を示す可能性もある。そのような受容体およびリガンドの例として、サイトカイン受容体およびそのリガンド、受容体キナーゼおよびそのリガンド、受容体フォスファターゼおよびそのリガンド、細胞間相互作用に関連した受容体（Selectin, Integurin、およびそのリガ

20 ンド、受容体キナーゼ等の細胞接着分子を含む。）およびそのリガンド、および抗原提示、抗原認識、および細胞性および液性免疫反応の発達に係わる受容体／リガンドの組み合わせが挙げられるが、これらに制限するものではない。受容体およびリガンドは、その相互作用に対する可能なペプチドあるいは小分子のインヒビターのスクリーニングにも有効である。本発明のポリペプチドは、（受容体

25 およびリガンドの断片を含むが、制限されるものではない）それ自身受容体／リガンドの相互作用のインヒビターとして有効であると考えられる。



### (9) その他の活性

本発明のポリペプチドは、以下に示す付加的な活性あるいは効果の一つあるいはそれ以上を示すと考えられる：細菌、ウィルス、カビ、および他の寄生虫を含む感染性の物質を殺傷する；身長、体重、髪の色、目の色、肌あるいは他の組織の色素沈着、あるいは器官の大きさ（例えば、胸部増量あるいは減量）等、身体的特徴に効果を及ぼす（抑制するあるいは促進）；食餌脂肪、蛋白質、あるいは炭水化物の分解に効果を及ぼす；食欲、性欲、ストレス、認識（認識障害）、鬱病、暴力行動を含む行動特徴に効果を及ぼす；鎮痛効果あるいは他の痛みを減少させる効果を提供する；胚性幹細胞の造血系以外の他の系統への分化および増殖を促進する；および、酵素の場合、その酵素の欠失を補う、および関連疾患の治療。

上記活性を有する本発明のポリペプチドは、例えばB細胞、T細胞、肥満細胞の増殖または細胞死、免疫グロブリンのクラススイッチ促進によるクラス特異的誘導、B細胞の抗体産生細胞への分化、顆粒球前駆細胞の増殖または分化、細胞死、単球・マクロファージ前駆細胞の増殖または分化、細胞死、好中球、単球・マクロファージ、好酸球、好塩基球の増殖または機能亢進、細胞死、巨核球前駆細胞の増殖または細胞死、好中球前駆細胞の増殖または分化、細胞死、BまたはT前駆細胞の増殖または分化、細胞死、赤血球の産生促進、赤血球、好中球、好酸球、好塩基球、単球・マクロファージ、肥満細胞、巨核球前駆細胞の増殖支持、好中球、単球・マクロファージ、B細胞またはT細胞の遊走促進、胸腺細胞の増殖または細胞死、脂肪細胞の分化抑制、ナチュラルキラー細胞の増殖または細胞死、造血幹細胞の増殖または細胞死、幹細胞および各種造血前駆細胞の増殖抑制、間葉系幹細胞からの骨芽細胞、軟骨細胞への分化促進または増殖、細胞死、あるいは破骨細胞の活性化や単球から破骨細胞への分化促進による骨吸収の促進の作用を本ポリペプチドのみで、またリガンドーレセプター間の結合を介して、あるいは他の分子と相乗的に働くことにより有する可能性がある。

また、本発明のポリペプチドは神経系にも作用することが予測されるので、各種神経伝達物質作動性神経細胞への分化ならびにそれらの生存維持または細胞死、グリア細胞の増殖促進または細胞死、神経突起の伸展、神経節細胞の生存維持または細胞死、アストロサイトの増殖または分化促進または細胞死、末梢神経の増殖または生存維持、細胞死、シュワン細胞の増殖または細胞死、運動神経の増殖または生存維持、細胞死の作用もある可能性がある。

さらに、本ポリペプチドは初期胚の発生過程において、外胚葉誘導作用による表皮、脳、背骨、神経の器官形成、中胚葉誘導作用による背索結合組織（骨、筋肉、腱）、血球細胞、心臓、腎臓、生殖巣の器官形成、あるいは内胚葉誘導作用による消化器系臓器（胃、腸、肝臓、膵臓）、呼吸器系（肺、気管）の形成に促進的または抑制的に作用する可能性があるとともに、生体においても上記器官の増殖あるいは増殖抑制作用を有する可能性がある。

したがって、本発明のポリペプチドはそれ自身で、免疫系または神経系もしくは骨代謝の機能の低下または亢進に関する疾患、または造血系細胞の發育不全または異常増殖、例えば炎症性疾患（リウマチ、潰瘍性大腸炎等）、骨髓移植後の造血幹細胞の減少症、ガン、白血病に対する放射線照射または化学療法剤投与後の白血球、血小板、B細胞またはT細胞の減少症、貧血、感染症、ガン、白血病、AIDS、骨代謝異常（骨粗鬆症等）、各種変性疾患（アルツハイマー病、多発性硬化症等）、あるいは神経損傷の予防または治療薬として用いることが期待される。

また本発明のポリペプチドは、外胚葉、中胚葉または内胚葉由来器官の分化または増殖作用を有する可能性があるので、各器官（表皮、骨、筋肉、腱、心臓、腎臓、胃、腸、肝臓、膵臓、肺、気管等）の組織修復剤として用いることも期待される。

また、本発明のポリペプチドのポリクローナル抗体またはモノクローナル抗体を用いて、生体における該ポリペプチドの定量が行なえ、これによって本発明ポリペプチドと疾患との関係の研究あるいは疾患の診断等に利用することができる。

ポリクローナル抗体およびモノクローナル抗体は該ポリペプチドあるいはその断片を抗原として用いて常法により作製することができる。

また本発明のポリペプチド（好ましくはその細胞外ドメインのポリペプチド）を用いることにより、例えばアフィニティーカラムを作製して、本ポリペプチドと結合する既知または未知の蛋白質（リガンド）の同定、精製あるいはその遺伝子クローニングを行なうことができる。

また本発明ポリペプチド（好ましくはその膜貫通領域または細胞内ドメインのポリペプチド）を用いて、例えばウエストーウエスタン法により、または該 cDNA（好ましくは該ポリペプチドの膜貫通領域または細胞内ドメインをコードする cDNA）を用いて、例えば酵母 2-ハイブリッド法により該ポリペプチドと細胞質内で相互作用する下流のシグナル伝達分子の同定、遺伝子クローニングを行なうこともできる。

さらに本発明のポリペプチドを用いることによって、本ポリペプチドレセプターアゴニスト、アンタゴニストおよび受容体-シグナル伝達分子間の阻害剤等のスクリーニングを行なうこともできる。

本発明の cDNA は、多大な有用性が期待される本発明のポリペプチドを生産する際の重要かつ必須の鋳型となるだけでなく、遺伝病の診断や治療（遺伝子欠損症の治療またはアンチセンス DNA（RNA）によって、ポリペプチドの発現を停止させることによる治療等）に利用できる。また、本発明の cDNA をプローブとしてジェノミック（genomic）DNA を分離できる。同様にして、本発明 cDNA と相同性の高いヒトの関連ポリペプチドの遺伝子、またマウス以外の生物における本発明ポリペプチドと相同性の高いポリペプチドの遺伝子を分離することも可能である。

#### [医薬品への適用]

造血系細胞の発育不全や異常増殖、神経系機能の亢進や低下、免疫系機能の亢進や低下に関する疾患、例えば炎症性疾患（リウマチ、潰瘍性大腸炎等）、骨髄

移植後の造血幹細胞の減少症、放射線治療後または化学療法剤投与後の白血球、血小板、B細胞またはT細胞の減少症、貧血、感染症、ガン、白血病、AIDS、各種変性疾患（アルツハイマー病、多発性硬化症等）、または神経損傷の予防または治療、骨代謝異常（骨粗鬆症等）の予防または治療薬、あるいは組織修復等のために、本発明のポリペプチドあるいは本発明のポリペプチドに対する抗体は、  
5 通常全身的又は局所的に、一般的には経口または非経口の形で投与される。好ましくは、経口投与、静脈内投与および脳室内投与である。

投与量は、年齢、体重、症状、治療効果、投与方法、処理時間等により異なるが、通常成人一人あたり、一回につき100  $\mu$ gから100 mgの範囲で、  
10 日一回から数回経口投与されるかまたは、成人一人当り、一回につき10  $\mu$ gから100 mgの範囲で、一日一回から数回非経口投与される。

もちろん前記したように、投与量は種々の条件により変動するので、上記投与量より少ない量で十分な場合もあるし、また範囲を越えて必要な場合もある。

本発明化合物を投与する際には、経口投与のための固体組成物、液体組成物およびその他の組成物、非経口投与のための注射剤、外用剤、坐剤等として用いられる。  
15

経口投与のための固体組成物には、錠剤、丸剤、カプセル剤、散剤、顆粒剤等が含まれる。カプセルには、ソフトカプセルおよびハードカプセルが含まれる。

このような固体組成物においては、一つまたはそれ以上の活性物質が、少なくとも一つの不活性な希釈剤（例えば、ラクトース、マンニトール、グルコース、  
20 ヒドロキシプロピルセルロース、微結晶セルロース、デンプン、ポリビニルピロリドン、メタケイ酸アルミン酸マグネシウム等）と混合される。組成物は、常法に従って不活性な希釈剤以外の添加物、例えば潤滑剤（ステアリン酸マグネシウム等）、崩壊剤（繊維素グリコール酸カルシウム等）、安定化剤（ヒト血清アルブミン、ラクトース等）、溶解補助剤（アルギニン、アスパラギン酸等）を含有  
25 していてもよい。

錠剤または丸剤は、必要により白糖、ゼラチン、ヒドロキシプロピルセルロー

ス、ヒドロキシプロピルメチルセルロースフタレート等の胃溶性あるいは腸溶性のフィルムで皮膜してもよいし、また2以上の層で皮膜してもよい。さらにゼラチンのような吸収されうる物質のカプセルも包含される。

5 経口投与のための液体組成物は、薬学的に許容される乳濁剤、溶液剤、懸濁剤、シロップ剤、エリキシル剤等を含み、一般に用いられる不活性な希釈剤（例えば、精製水、エタノール等）を含んでいてもよい。この様な組成物は、不活性な希釈剤以外に湿潤剤、懸濁剤のような補助剤、甘味剤、風味剤、芳香剤、防腐剤を含有していてもよい。

10 経口投与のためのその他の組成物としては、ひとつまたはそれ以上の活性物質を含み、それ自体公知の方法により処方されるスプレー剤が含まれる。この組成物は不活性な希釈剤以外に亜硫酸水素ナトリウムのような安定剤と等張性を与えるような安定化剤、塩化ナトリウム、クエン酸ナトリウムあるいはクエン酸のような等張剤を含有していてもよい。スプレー剤の製造方法は、例えば米国特許第2,868,691号および同第3,095,355号明細書に詳しく記載されている。

15 本発明による非経口投与のための注射剤としては、無菌の水性または非水性の溶液剤、懸濁剤、乳濁剤を包含する。水性または非水性の溶液剤、懸濁剤としては、一つまたはそれ以上の活性物質が、少なくとも一つの不活性な希釈剤と混合される。水性の希釈剤としては、例えば注射用蒸留水および生理食塩水が挙げられる。非水性の希釈剤としては、例えばプロピレングリコール、ポリエチレングリコール、オリーブ油のような植物油、エタノールのようなアルコール類、ポリソルベート80（登録商標）等が挙げられる。

20 このような組成物は、さらに防腐剤、湿潤剤、乳化剤、分散剤、安定化剤（例えば、ヒト血清アルブミン、ラクトース等）、溶解補助剤（例えば、アルギニン、アスパラギン酸等）のような補助剤を含んでいてもよい。

25

#### 発明を実施するための最良の形態

以下に実施例を挙げて本発明をより具体的に説明するが、これらは本発明の範

囲を制限するものではない。

### 実施例

ヒト骨髓ストローマ細胞株HAS303（東京医科大学第一内科外山圭助教授、相沢信助手より供与。J. Cell. Physiol., 148 : 245-251 (1991) および  
5 Experimental Hematol., 22 : 482-487(1994)に記載されている。)よりTRIzol試薬 (TRIzol reagent (登録商標、GIBCOBRL 社より販売)) を用いて全RNAを抽出し、mRNA・ピュリフィケーション・キット (mRNA Purification Kit (商品名、Pharmacia 社より販売)) を用いてpoly (A) RNAを精製した。XhoI部位を連結したランダム9mer (配列番号9 :  
10 5' -CGATTGAATTCTAGACCTGCCTCGAGNNNNNNNNNN-3') をプライマーとして、スーパースクリプト・プラスミド・システム (SuperScript Plasmid System for cDNA Synthesis and Plasmid Cloning (商品名、GIBCOBRL 社より販売)) を用いて2本鎖cDNAの合成を行なった。

EcoRIアダプター (GIBCOBRL 社より販売) をDNA・ライゲーション・  
15 キット・ver.2 (DNA ligation kit ver.2 (商品名、宝酒造 (株) より販売) 以後DNAの連結はすべて本キットを使用した。) を用いて連結した後、XhoIで消化し、アガロース電気泳動で300~800bpのcDNAを切り出して分画し、pSUC2 (米国特許 5536637 号参照) のEcoRI/NotI部位に連結し、大腸菌DH10B株にエレクトロポレーション法で形質転換して酵母SST用のcDNAライブラリーを得た。  
20

このcDNAライブラリーのプラスミドを調製し、酢酸リチウム法 (Current Protocols In Molecular Biology 13.7.1 を参照) により酵母YTK12株を形質転換し、トリプトファン (Trp) を含まない酵母形質転換体の選択培地 (CMD-Trp培地) のプレート上にまき、30℃で48時間インキュベートした後、  
25 アクトラン・レプリカ・プレーター (Accutran Replica Plater (商品名、Schleicher & Schuell 社より販売)) を用いて得られたコロニー (形質転換体) のレプリカをラフィノースを炭素源とするYPRプレートにとり、30℃

で14日間インキュベートした。3日目以降、出現してきた各々のコロニーを一つずつ再度YPRプレートにストリークして30℃で48時間インキュベートした後、シングルコロニーをYPD培地に植菌し、30℃で48時間インキュベートした後、プラスミドを調製した。

- 5 続いてpSUC2のクローニングサイトの両端の配列の2種類のプライマー（センス鎖はビオチン化プライマー）を用いて公知の方法に従ってPCRを行ない、インサートcDNAを増幅した後、ダイナビーズ（Dynaheads、商品名、DYNAL社より販売）を用いてビオチン化1本鎖DNAを精製し、塩基配列の決定を行なった。塩基配列の決定はDNA・シーケンシング・キット（DNA
- 10 Sequencing kit (Dye Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction)（商品名、Applied Biosystems Inc. より販売））を用いた蛍光ダイターミネーターサイクルシーケンス法で反応を行ない、自動DNAシーケンサー373（Applied Biosystems Inc.）で読み取りを行なった（以下、塩基配列決定はすべて本方法で行なった。）。
- 15 その中の1クローンOAF065について得られた塩基配列および推定されるアミノ酸配列についてデータベースとの相同性検索を行なった結果、データベースに登録されていない新規のDNAであることが明らかとなった。また推定されるアミノ酸配列を既知のシグナルシーケンスと比較することにより本発明のDNAが機能的かつ構造的にもシグナルシーケンスを有することが確認された。
- 20 次に3' RACE（Rapid Amplification of cDNA End）法によりOAF065の全長cDNAを単離した。3' RACE法はマラソン・cDNA・アンプリフィケーション・キット（Marathon cDNA Amplification Kit（商品名、Clontech社より販売））を用いた。このキットの方法に従ってHAS303のpoly(A) RNAよりアダプターを連結した2本鎖cDNAを調製した。S
- 25 STで得られた塩基配列の情報に基づいて推定翻訳開始点ATG領域を含む28merのOAF065特異的プライマーF3（配列番号10：5'-AGAAAGATGGCTTTAAAAGTGCTACTAG-3'）を作製して、該

キットに添付されたアダプタープライマーとでPCRを行なった。その結果、4.0 kbと1.5 kbの2種類のDNAが増幅されたため、4.0 kbのcDNAをOAF065 $\alpha$ 、1.5 kbのcDNAをOAF065 $\beta$ と命名した。

この2種類のDNAをアガロース電気泳動で分画後、pT7ブルー2・Tベクター (pT7 Blue-2 T-Vector (商品名、Novagen 社より販売)) に連結し、大腸菌DH5 $\alpha$ に形質転換してプラスミドを調製した。初めに5'側の塩基配列を決定して、両者にOAF065特異的プライマーF3の塩基配列が存在することを確認した後、OAF065 $\alpha$ に関しては5'側の約1.7 kbを、OAF065 $\beta$ に関しては全塩基配列を決定し、それぞれ配列番号3および7に示す配列を得た。さらにオープンリーディングフレームを検索し、アミノ酸に翻訳して配列番号1および5に示す配列を得た。

OAF065 $\alpha$ およびOAF065 $\beta$ の塩基配列を比較すると、5'側の1～1290 bまでの塩基配列はすべて一致していたが、1291 b以降の塩基配列は全く相同性が認められなかった。またOAF065 $\alpha$ およびOAF065 $\beta$ のアミノ酸配列を比較するとN末端側の1～415アミノ酸はすべて一致しており、OAF065 $\alpha$ のC末端側2アミノ酸 (GluAla) のみがOAF065 $\beta$ では8アミノ酸 (ValArgGlnArgLeuGlySerLeu) に置換されていた。また疎水性プロットによる解析からOAF065 $\alpha$ およびOAF065 $\beta$ はI型の膜蛋白質であり、細胞外領域と膜貫通領域はすべて共通であることが判明した。

さらにスイスプロット (Swiss Prot Release 33) に登録されている既知のポリペプチドのアミノ酸配列と比較した結果、本発明のポリペプチドOAF065 $\alpha$ とOAF065 $\beta$ は未知であったが、細胞外領域にTNF受容体ファミリーに共通するCysリッチ領域を有することが判明した。すなわち、図1に他のTNF受容体ファミリーであるヒト腫瘍壊死因子受容体1 (hTNFR1)、ヒト腫瘍壊死因子受容体2 (hTNFR2)、ヒト神経成長因子受容体 (hNGFR) およびヒトFas (hFas) とのアミノ酸配列の比較を示す通り (アミノ



酸を1文字記号で示す。）、本発明ポリペプチド（O A F 0 6 5）はI型の膜蛋白質で細胞外領域に腫瘍壊死因子（Tumor necrosis factor：T N F）受容体ファミリーに共通するC y s リッチ領域を有することが判明した。このことから、本発明のポリペプチドO A F 0 6 5  $\alpha$ およびO A F 0 6 5  $\beta$ は、T N F受容体ファミリーに属する新規の膜蛋白質であることが確認された。

5

## 配 列 表

配列番号：1

配列の長さ：417

配列の型：アミノ酸

5 トポロジー：直鎖状

配列の種類：タンパク質

配列

	Met	Ala	Leu	Lys	Val	Leu	Leu	Glu	Gln	Glu	Lys	Thr	Phe	Phe	Thr	Leu
	1				5					10					15	
10	Leu	Val	Leu	Leu	Gly	Tyr	Leu	Ser	Cys	Lys	Val	Thr	Cys	Glu	Thr	Gly
					20					25					30	
	Asp	Cys	Arg	Gln	Gln	Glu	Phe	Arg	Asp	Arg	Ser	Gly	Asn	Cys	Val	Pro
					35					40					45	
	Cys	Asn	Gln	Cys	Gly	Pro	Gly	Met	Glu	Leu	Ser	Lys	Glu	Cys	Gly	Phe
15		50						55					60			
	Gly	Tyr	Gly	Glu	Asp	Ala	Gln	Cys	Val	Thr	Cys	Arg	Leu	His	Arg	Phe
	65					70					75				80	
	Lys	Glu	Asp	Trp	Gly	Phe	Gln	Lys	Cys	Lys	Pro	Cys	Leu	Asp	Cys	Ala
					85					90					95	
20	Val	Val	Asn	Arg	Phe	Gln	Lys	Ala	Asn	Cys	Ser	Ala	Thr	Ser	Asp	Ala
					100					105					110	
	Ile	Cys	Gly	Asp	Cys	Leu	Pro	Gly	Phe	Tyr	Arg	Lys	Thr	Lys	Leu	Val
					115					120					125	
	Gly	Phe	Gln	Asp	Met	Glu	Cys	Val	Pro	Cys	Gly	Asp	Pro	Pro	Pro	Pro
25		130						135					140			
	Tyr	Glu	Pro	His	Cys	Ala	Ser	Lys	Val	Asn	Leu	Val	Lys	Ile	Ala	Ser
	145					150					155				160	

Thr Ala Ser Ser Pro Arg Asp Thr Ala Leu Ala Ala Val Ile Cys Ser  
                                 165                                170                                175  
 Ala Leu Ala Thr Val Leu Leu Ala Leu Leu Ile Leu Cys Val Ile Tyr  
                                 180                                185                                190  
 5 Cys Lys Arg Gln Phe Met Glu Lys Lys Pro Ser Trp Ser Leu Arg Ser  
                                 195                                200                                205  
 Gln Asp Ile Gln Tyr Asn Gly Ser Glu Leu Ser Cys Leu Asp Pro Arg  
                                 210                                215                                220  
 Gln Leu His Glu Tyr Ala His Arg Ala Cys Cys Gln Cys Arg Arg Asp  
 10 225                                230                                235                                240  
 Ser Val Gln Thr Cys Gly Pro Val Arg Leu Leu Pro Ser Met Cys Cys  
                                 245                                250                                255  
 Glu Glu Ala Cys Ser Pro Asn Pro Ala Thr Leu Gly Cys Gly Val His  
                                 260                                265                                270  
 15 Ser Ala Ala Ser Leu Gln Ala Arg Asn Ala Gly Pro Ala Gly Glu Met  
                                 275                                280                                285  
 Val Pro Thr Phe Phe Gly Ser Leu Thr Gln Ser Ile Cys Gly Glu Phe  
                                 290                                295                                300  
 Ser Asp Ala Trp Pro Leu Met Gln Asn Pro Met Gly Gly Asp Asn Ile  
 20 305                                310                                315                                320  
 Ser Phe Cys Asp Ser Tyr Pro Glu Leu Thr Gly Glu Asp Ile His Ser  
                                 325                                330                                335  
 Leu Asn Pro Glu Leu Glu Ser Ser Thr Ser Leu Asp Ser Asn Ser Ser  
                                 340                                345                                350  
 25 Gln Asp Leu Val Gly Gly Ala Val Pro Val Gln Ser His Ser Glu Asn  
                                 355                                360                                365

Phe Thr Ala Ala Thr Asp Leu Ser Arg Tyr Asn Asn Thr Leu Val Glu  
 370 375 380  
 Ser Ala Ser Thr Gln Asp Ala Leu Thr Met Arg Ser Gln Leu Asp Gln  
 385 390 395 400  
 5 Glu Ser Gly Ala Ile Ile His Pro Ala Thr Gln Thr Ser Leu Gln Glu  
 405 410 415  
 Ala

配列番号：2

10 配列の長さ：1 2 6 9

配列の型：核酸

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：cDNA to mRNA

15 配列

ATGGCTTTAA AAGTGCTACT AGAACAAGAG AAAACGTTTT TCACTCTTTT AGTATTACTA 60  
 GGCTATTTGT CATGTAAAGT GACTTGTGAA ACAGGAGACT GTAGACAGCA AGAATTCAGG 120  
 GATCGGTCTG GAAACTGTGT TCCCTGCAAC CAGTGTGGGC CAGGCATGGA GTTGTCTAAG 180  
 GAATGTGGCT TCGGCTATGG GGAGGATGCA CAGTGTGTGA CGTGCCGGCT GCACAGGTTC 240  
 20 AAGGAGGACT GGGGCTTCCA GAAATGCAAG CCCTGTCTGG ACTGCGCAGT GGTGAACCGC 300  
 TTTCAGAAAG CAAATTGTTC AGCCACCAGT GATGCCATCT GCGGGGACTG CTTGCCAGGA 360  
 TTTTATAGGA AGACGAAACT TGTCGGCTTT CAAGACATGG AGTGTGTGCC TTGTGGAGAC 420  
 CCTCCTCCTC CTTACGAACC GCACTGTGCC AGCAAGGTCA ACCTCGTGAA GATCGCGTCC 480  
 ACGGCCTCCA GCCCACGGGA CACGGCGCTG GCTGCCGTTA TCTGCAGCGC TCTGGCCACC 540  
 25 GTCCTGCTGG CCCTGCTCAT CCTCTGTGTC ATCTATTGTA AGAGACAGTT TATGGAGAAG 600  
 AAACCCAGCT GGTCTCTGCG GTCACAGGAC ATTCAGTACA ACGGCTCTGA GCTGTCTGTG 660  
 CTTGACAGAC CTCAGCTCCA CGAATATGCC CACAGAGCCT GCTGCCAGTG CCGCCGTGAC 720

TCAGTGCAGA CCTGCGGGCC GGTGCGCTTG CTCCCATCCA TGTGCTGTGA GGAGGCCTGC 780  
 AGCCCCAACC CGGCGACTCT TGGTTGTGGG GTGCATTCTG CAGCCAGTCT TCAGGCAAGA 840  
 AACGCAGGCC CAGCCGGGGA GATGGTGCCG ACTTTCTTCG GATCCCTCAC GCAGTCCATC 900  
 TGTGGCGAGT TTTCAGATGC CTGGCCTCTG ATGCAGAATC CCATGGGTGG TGACAACATC 960  
 5 TCTTTTGTG ACTCTTATCC TGAATCACT GGAGAAGACA TTCATTCTCT CAATCCAGAA 1020  
 CTTGAAAGCT CAACGTCTTT GGATTCAAAT AGCAGTCAAG ATTTGGTTGG TGGGGCTGTT 1080  
 CCAGTCCAGT CTCATTCTGA AAACCTTACA GCAGCTACTG ATTTATCTAG ATATAACAAC 1140  
 ACACTGGTAG AATCAGCATC AACTCAGGAT GCACTAACTA TGAGAAGCCA GCTAGATCAG 1200  
 GAGAGTGGCG CTATCATCCA CCCAGCCACT CAGACGTCCC TCCAGGTAAG GCAGCGACTG 1260  
 10 GGTTCCTG 1269

配列番号 : 3

配列の長さ : 1 7 0 4

配列の型 : 核酸

15 鎖の数 : 一本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : cDNA to mRNA

配列

GGGAACGTAG AACTCTCCAA CAATAAATAC ATTTGATAAG AAAGATGGCT TAAAAAGTGC 60  
 20 TACTAGAACA AGAGAAAACG TTTTTCCTC TTTTAGTATT ACTAGGCTAT TTGTCATGTA 120  
 AAGTGAAGTG TGAAACAGGA GACTGTAGAC AGCAAGAATT CAGGGATCGG TCTGGAAACT 180  
 GTGTTCCCTG CAACCAAGTG GGGCCAGGCA TGGAGTTGTC TAAGGAATGT GGCTTCGGCT 240  
 ATGGGGAGGA TGCACAGTGT GTGACGTGCC GGCTGCACAG GTTCAAGGAG GACTGGGGCT 300  
 TCCAGAAATG CAAGCCCTGT CTGGACTGCG CAGTGGTGAA CCGCTTTCAG AAGGCAAATT 360  
 25 GTTCAGCCAC CAGTGATGCC ATCTGCGGGG ACTGCTTGCC AGGATTTTAT AGGAAGACGA 420  
 AACTTGTCGG CTTTCAAGAC ATGGAGTGTG TGCCTTGTGG AGACCCTCCT CCTCCTTACG 480  
 AACCGCACTG TGCCAGCAAG GTCAACCTCG TGAAGATCGC GTCCACGGCC TCCAGCCCAC 540

```

GGGACACGGC GCTGGCTGCC GTTATCTGCA GCGCTCTGGC CACCGTCCTG CTGGCCCTGC 600
TCATCCTCTG TGTATCTAT TGTAAGAGAC AGTTTATGGA GAAGAAACCC AGCTGGTCTC 660
TGCGGTCACA GGACATTCAG TACAACGGCT CTGAGCTGTC GTGTCTTGAC AGACCTCAGC 720
TCCACGAATA TGCCACAGA GCCTGCTGCC AGTGCCGCCG TGA CTCAGTG CAGACCTGCG 780
5  GGCCGGTGCG CTTGCTCCCA TCCATGTGCT GTGAGGAGGC CTGCAGCCCC AACCCGGCGA 840
CTCTTGGTTG TGGGGTG CAT TCTGCAGCCA GTCTTCAGGC AAGAAACGCA GGCCAGCCG 900
GGGAGATGGT GCCGACTTTC TTCGGATCCC TCACGCAGTC CATCTGTGGC GAGTTTTCAG 960
ATGCCTGGCC TCTGATGCAG AATCCCATGG GTGGTGACAA CATCTCTTTT TGTGACTCTT 1020
ATCCTGAACT CACTGGAGAA GACATTCATT CTCTCAATCC AGA ACTTGAA AGCTCAACGT 1080
10 CTTTGGATTG AAATAGCAGT CAAGATTTGG TTGGTGGGGC TGTTCAGTC CAGTCTCATT 1140
CTGAAAACCT TACAGCAGCT ACTGATTTAT CTAGATATAA CAACACACTG GTAGAATCAG 1200
CATCAACTCA GGATGCACTA ACTATGAGAA GCCAGCTAGA TCAGGAGAGT GGCGCTATCA 1260
TCCACCCAGC CACTCAGACG TCCCTCCAGG AAGCTTAAAG AACCTGCTTC TTTCTGCAGT 1320
AGAAGCGTGT GCTGGAACCC AAAGAGTACT CCTTTGTTAG GCTTATGGAC TGAGCAGTCT 1380
15 GGACCTTGCA TGGCTTCTGG GGCAAAAATA AATCTGAACC AA ACTGACGG CATTGGAAGC 1440
CTTTCAGCCA GTTGCTTCTG AGCCAGACCA GCTGTAAGCT GAAACCTCAA TGAATAACAA 1500
GAAAAGACTC CAGGCCGACT CATGATACTC TGCATCTTTC CTACATGAGA AGCTTCTCTG 1560
CCACAAAAGT GACTTCAAAG ACGGATGGGT TGAGCTGGCA GCCTATGAGA TTGTGGACAT 1620
ATAACAAGAA ACAGAAATGC CCTCATGCTT ATTTTCATGG TGATTGTGGT TTTACAAGAC 1680
20 TGAAGACCCA GAGTATACTT TTTC 1704

```

配列番号 : 4

配列の長さ : 1 7 0 4

配列の型 : 核酸

25 鎖の数 : 一本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : cDNA to mRNA

## 起源

生物名：Homo Sapiens

セルライン：HAS303

## 配列の特徴

5 特徴を表す記号：C D S

存在位置：45..1295

特徴を決定した方法：P

特徴を表す記号：sig peptide

10 存在位置：45..119

特徴を決定した方法：S

特徴を表す記号：mat peptide

存在位置：120..1295

15 特徴を決定した方法：S

## 配列

GGGAACGTAG AACTCTCCAA CAATAAATAC ATTTGATAAG AAAG ATG GCT TTA AAA 56

Met Ala Leu Lys

-25

20 GTG CTA CTA GAA CAA GAG AAA ACG TTT TTC ACT CTT TTA GTA TTA CTA 104

Val Leu Leu Glu Gln Glu Lys Thr Phe Phe Thr Leu Leu Val Leu Leu

-20

-15

-10

GGC TAT TTG TCA TGT AAA GTG ACT TGT GAA ACA GGA GAC TGT AGA CAG 152

Gly Tyr Leu Ser Cys Lys Val Thr Cys Glu Thr Gly Asp Cys Arg Gln

25 -5

1

5

10

	CAA GAA TTC AGG GAT CGG TCT GGA AAC TGT GTT CCC TGC AAC CAG TGT	200
	Gln Glu Phe Arg Asp Arg Ser Gly Asn Cys Val Pro Cys Asn Gln Cys	
	15 20 25	
	GGG CCA GGC ATG GAG TTG TCT AAG GAA TGT GGC TTC GGC TAT GGG GAG	248
5	Gly Pro Gly Met Glu Leu Ser Lys Glu Cys Gly Phe Gly Tyr Gly Glu	
	30 35 40	
	GAT GCA CAG TGT GTG ACG TGC CGG CTG CAC AGG TTC AAG GAG GAC TGG	296
	Asp Ala Gln Cys Val Thr Cys Arg Leu His Arg Phe Lys Glu Asp Trp	
	45 50 55	
10	GGC TTC CAG AAA TGC AAG CCC TGT CTG GAC TGC GCA GTG GTG AAC CGC	344
	Gly Phe Gln Lys Cys Lys Pro Cys Leu Asp Cys Ala Val Val Asn Arg	
	60 65 70 75	
	TTT CAG AAG GCA AAT TGT TCA GCC ACC AGT GAT GCC ATC TGC GGG GAC	392
	Phe Gln Lys Ala Asn Cys Ser Ala Thr Ser Asp Ala Ile Cys Gly Asp	
15	80 85 90	
	TGC TTG CCA GGA TTT TAT AGG AAG ACG AAA CTT GTC GGC TTT CAA GAC	440
	Cys Leu Pro Gly Phe Tyr Arg Lys Thr Lys Leu Val Gly Phe Gln Asp	
	95 100 105	
	ATG GAG TGT GTG CCT TGT GGA GAC CCT CCT CCT CCT TAC GAA CCG CAC	488
20	Met Glu Cys Val Pro Cys Gly Asp Pro Pro Pro Pro Tyr Glu Pro His	
	110 115 120	
	TGT GCC AGC AAG GTC AAC CTC GTG AAG ATC GCG TCC ACG GCC TCC AGC	536
	Cys Ala Ser Lys Val Asn Leu Val Lys Ile Ala Ser Thr Ala Ser Ser	
	125 130 135	
25	CCA CGG GAC ACG GCG CTG GCT GCC GTT ATC TGC AGC GCT CTG GCC ACC	584
	Pro Arg Asp Thr Ala Leu Ala Ala Val Ile Cys Ser Ala Leu Ala Thr	
	140 145 150 155	



	GTC CTG CTG GCC CTG CTC ATC CTC TGT GTC ATC TAT TGT AAG AGA CAG	632
	Val Leu Leu Ala Leu Leu Ile Leu Cys Val Ile Tyr Cys Lys Arg Gln	
	160 165 170	
	TTT ATG GAG AAG AAA CCC AGC TGG TCT CTG CGG TCA CAG GAC ATT CAG	680
5	Phe Met Glu Lys Lys Pro Ser Trp Ser Leu Arg Ser Gln Asp Ile Gln	
	175 180 185	
	TAC AAC GGC TCT GAG CTG TCG TGT CTT GAC AGA CCT CAG CTC CAC GAA	728
	Tyr Asn Gly Ser Glu Leu Ser Cys Leu Asp Rro Arg Gln Leu His Glu	
	190 195 200	
10	TAT GCC CAC AGA GCC TGC TGC CAG TGC CGC CGT GAC TCA GTG CAG ACC	776
	Tyr Ala His Arg Ala Cys Cys Gln Cys Arg Arg Asp Ser Val Gln Thr	
	205 210 215	
	TGC GGG CCG GTG CGC TTG CTC CCA TCC ATG TGC TGT GAG GAG GCC TGC	824
	Cys Gly Pro Val Arg Leu Leu Pro Ser Met Cys Cys Glu Glu Ala Cys	
15	220 225 230 235	
	AGC CCC AAC CCG GCG ACT CTT GGT TGT GGG GTG CAT TCT GCA GCC AGT	872
	Ser Pro Asn Pro Ala Thr Leu Gly Cys Gly Val His Ser Ala Ala Ser	
	240 245 250	
	CTT CAG GCA AGA AAC GCA GGC CCA GCC GGG GAG ATG GTG CCG ACT TTC	920
20	Leu Gln Ala Arg Asn Ala Gly Pro Ala Gly Glu Met Val Pro Thr Phe	
	255 260 265	
	TTC GGA TCC CTC ACG CAG TCC ATC TGT GGC GAG TTT TCA GAT GCC TGG	968
	Phe Gly Ser Leu Thr Gln Ser Ile Cys Gly Glu Phe Ser Asp Ala Trp	
	270 275 280	
25	CCT CTG ATG CAG AAT CCC ATG GGT GGT GAC AAC ATC TCT TTT TGT GAC	1016
	Pro Leu Met Gln Asn Pro Met Gly Gly Asp Asn Ile Ser Phe Cys Asp	
	285 290 295	

TCT TAT CCT GAA CTC ACT GGA GAA GAC ATT CAT TCT CTC AAT CCA GAA 1064  
 Ser Tyr Pro Glu Leu Thr Gly Glu Asp Ile His Ser Leu Asn Pro Glu  
 300 305 310 315  
 CTT GAA AGC TCA ACG TCT TTG GAT TCA AAT AGC AGT CAA GAT TTG GTT 1112  
 5 Leu Glu Ser Ser Thr Ser Leu Asp Ser Asn Ser Ser Gln Asp Leu Val  
 320 325 330  
 GGT GGG GCT GTT CCA GTC CAG TCT CAT TCT GAA AAC TTT ACA GCA GCT 1160  
 Gly Gly Ala Val Pro Val Gln Ser His Ser Glu Asn Phe Thr Ala Ala  
 335 340 345  
 10 ACT GAT TTA TCT AGA TAT AAC AAC ACA CTG GTA GAA TCA GCA TCA ACT 1208  
 Thr Asp Leu Ser Arg Tyr Asn Asn Thr Leu Val Glu Ser Ala Ser Thr  
 350 355 360  
 CAG GAT GCA CTA ACT ATG AGA AGC CAG CTA GAT CAG GAG AGT GGC GCT 1256  
 Gln Asp Ala Leu Thr Met Arg Ser Gln Leu Asp Gln Glu Ser Gly Ala  
 15 365 370 375  
 ATC ATC CAC CCA GCC ACT CAG ACG TCC CTC CAG GAA GCT TAAAGAACCT 1305  
 Ile Ile His Pro Ala Thr Gln Thr Ser Leu Gln Glu Ala  
 380 385 390  
 GCTTCTTTCT GCAGTAGAAG CGTGTGCTGG AACCCAAAGA GTACTCCTTT GTTAGGCTTA 1365  
 20 TGGACTGAGC AGTCTGGACC TTGCATGGCT TCTGGGGCAA AAATAAATCT GAACCAAAC 1425  
 GACGGCATT T GAAGCCTTTC AGCCAGTTGC TTCTGAGCCA GACCAGCTGT AAGCTGAAAC 1485  
 CTCAATGAAT AACAAGAAAA GACTCCAGGC CGACTCATGA TACTCTGCAT CTTTCCTACA 1545  
 TGAGAAGCTT CTCTGCCACA AAAGTGACTT CAAAGACGGA TGGGTTGAGC TGGCAGCCTA 1605  
 TGAGATTGTG GACATATAAC AAGAAACAGA AATGCCCTCA TGCTTATTTT CATGGTGATT 1665  
 25 GTGGTTTTAC AAGACTGAAG ACCCAGAGTA TACTTTTTT 1704

配列番号：5

配列の長さ：4 2 3

配列の型：アミノ酸

トポロジー：直鎖状

5 配列の種類：タンパク質

配列

	Met	Ala	Leu	Lys	Val	Leu	Leu	Glu	Gln	Glu	Lys	Thr	Phe	Phe	Thr	Leu
	1				5						10					15
	Leu	Val	Leu	Leu	Gly	Tyr	Leu	Ser	Cys	Lys	Val	Thr	Cys	Glu	Thr	Gly
10				20					25							30
	Asp	Cys	Arg	Gln	Gln	Glu	Phe	Arg	Asp	Arg	Ser	Gly	Asn	Cys	Val	Pro
				35					40					45		
	Cys	Asn	Gln	Cys	Gly	Pro	Gly	Met	Glu	Leu	Ser	Lys	Glu	Cys	Gly	Phe
		50					55						60			
15	Gly	Tyr	Gly	Glu	Asp	Ala	Gln	Cys	Val	Thr	Cys	Arg	Leu	His	Arg	Phe
	65					70					75					80
	Lys	Glu	Asp	Trp	Gly	Phe	Gln	Lys	Cys	Lys	Pro	Cys	Leu	Asp	Cys	Ala
					85						90					95
	Val	Val	Asn	Arg	Phe	Gln	Lys	Ala	Asn	Cys	Ser	Ala	Thr	Ser	Asp	Ala
20				100							105					110
	Ile	Cys	Gly	Asp	Cys	Leu	Pro	Gly	Phe	Tyr	Arg	Lys	Thr	Lys	Leu	Val
				115							120					125
	Gly	Phe	Gln	Asp	Met	Glu	Cys	Val	Pro	Cys	Gly	Asp	Pro	Pro	Pro	Pro
				130							135					140
25	Tyr	Glu	Pro	His	Cys	Ala	Ser	Lys	Val	Asn	Leu	Val	Lys	Ile	Ala	Ser
	145					150						155				160

Thr Ala Ser Ser Pro Arg Asp Thr Ala Leu Ala Ala Val Ile Cys Ser  
 165 170 175  
 Ala Leu Ala Thr Val Leu Leu Ala Leu Leu Ile Leu Cys Val Ile Tyr  
 180 185 190  
 5 Cys Lys Arg Gln Phe Met Glu Lys Lys Pro Ser Trp Ser Leu Arg Ser  
 195 200 205  
 Gln Asp Ile Gln Tyr Asn Gly Ser Glu Leu Ser Cys Leu Asp Pro Arg  
 210 215 220  
 Gln Leu His Glu Tyr Ala His Arg Ala Cys Cys Gln Cys Arg Arg Asp  
 10 225 230 235 240  
 Ser Val Gln Thr Cys Gly Pro Val Arg Leu Leu Pro Ser Met Cys Cys  
 245 250 255  
 Glu Glu Ala Cys Ser Pro Asn Pro Ala Thr Leu Gly Cys Gly Val His  
 260 265 270  
 15 Ser Ala Ala Ser Leu Gln Ala Arg Asn Ala Gly Pro Ala Gly Glu Met  
 275 280 285  
 Val Pro Thr Phe Phe Gly Ser Leu Thr Gln Ser Ile Cys Gly Glu Phe  
 290 295 300  
 Ser Asp Ala Trp Pro Leu Met Gln Asn Pro Met Gly Gly Asp Asn Ile  
 20 305 310 315 320  
 Ser Phe Cys Asp Ser Tyr Pro Glu Leu Thr Gly Glu Asp Ile His Ser  
 325 330 335  
 Leu Asn Pro Glu Leu Glu Ser Ser Thr Ser Leu Asp Ser Asn Ser Ser  
 340 345 350  
 25 Gln Asp Leu Val Gly Gly Ala Val Pro Val Gln Ser His Ser Glu Asn  
 355 360 365

Phe Thr Ala Ala Thr Asp Leu Ser Arg Tyr Asn Asn Thr Leu Val Glu  
 370 375 380

Ser Ala Ser Thr Gln Asp Ala Leu Thr Met Arg Ser Gln Leu Asp Gln  
 385 390 395 400

5 Glu Ser Gly Ala Ile Ile His Pro Ala Thr Gln Thr Ser Leu Gln Val  
 405 410 415

Arg Gln Arg Leu Gly Ser Leu  
 420

10 配列番号 : 6

配列の長さ : 1 2 6 9

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 一本鎖

トポロジー : 直鎖状

15 配列の種類 : cDNA to mRNA

配列

ATGGCTTTAA AAGTGCTACT AGAACAAGAG AAAACGTTTT TCACTCTTTT AGTATTACTA 60  
 GGCTATTTGT CATGTAAAGT GACTTGTGAA ACAGGAGACT GTAGACAGCA AGAATTCAGG 120  
 GATCGGTCTG GAAACTGTGT TCCCTGCAAC CAGTGTGGGC CAGGCATGGA GTTGTCTAAG 180  
 20 GAATGTGGCT TCGGCTATGG GGAGGATGCA CAGTGTGTGA CGTGCCGGCT GCACAGGTTC 240  
 AAGGAGGACT GGGGCTTCCA GAAATGCAAG CCCTGTCTGG ACTGCGCAGT GGTGAACCGC 300  
 TTTGAGAAGG CAAATTGTTC AGCCACCAGT GATGCCATCT GCGGGGACTG CTTGCCAGGA 360  
 TTTTATAGGA AGACGAAACT TGTCGGCTTT CAAGACATGG AGTGTGTGCC TTGTGGAGAC 420  
 CCTCCTCCTC CTTACGAACC GCACTGTGCC AGCAAGGTCA ACCTCGTGAA GATCGCGTCC 480  
 25 ACGGCCTCCA GCCACGGGA CACGGCGCTG GCTGCCGTTA TCTGCAGCGC TCTGGCCACC 540  
 GTCCTGCTGG CCCTGCTCAT CCTCTGTGTC ATCTATTGTA AGAGACAGTT TATGGAGAAG 600  
 AAACCCAGCT GGTCTCTGCG GTCACAGGAC ATTCAGTACA ACGGCTCTGA GCTGTCGTGT 660

CTTGACAGAC CTCAGCTCCA CGAATATGCC CACAGAGCCT GCTGCCAGTG CCGCCGTGAC 720  
 TCAGTGCAGA CCTGCGGGCC GGTGCGCTTG CTCCCATCCA TGTGCTGTGA GGAGGCCTGC 780  
 AGCCCCAACC CGGCGACTCT TGGTTGTGGG GTGCATTCTG CAGCCAGTCT TCAGGCAAGA 840  
 AACGCAGGCC CAGCCGGGGA GATGGTGCCG ACTTTCTTCG GATCCCTCAC GCAGTCCATC 900  
 5 TGTGGCGAGT TTTCAGATGC CTGGCCTCTG ATGCAGAATC CCATGGGTGG TGACAACATC 960  
 TCTTTTGTG ACTCTTATCC TGAAGTCACT GGAGAAGACA TTCATTCTCT CAATCCAGAA 1020  
 CTTGAAAGCT CAACGTCTTT GGATTCAAAT AGCAGTCAAG ATTGGTTGG TGGGGCTGTT 1080  
 CCAGTCCAGT CTCATTCTGA AAACCTTACA GCAGCTACTG ATTTATCTAG ATATAACAAC 1140  
 ACACTGGTAG AATCAGCATC AACTCAGGAT GCACTAACTA TGAGAAGCCA GCTAGATCAG 1200  
 10 GAGAGTGGCG CTATCATCCA CCCAGCCACT CAGACGTCCT TCCAGGTAAG GCAGCGACTG 1260  
 GGTTCCTG 1269

配列番号 : 7

配列の長さ : 1 4 9 6

15 配列の型 : 核酸

鎖の数 : 一本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : cDNA to mRNA

配列

20 GGGAACGTAG AACTCTCCAA CAATAAATAC ATTTGATAAG AAAGATGGCT TTAAAAGTGC 60  
 TACTAGAACA AGAGAAAACG TTTTTCACCTC TTTTAGTATT ACTAGGCTAT TTGTCATGTA 120  
 AAGTGAATTG TGAAACAGGA GACTGTAGAC AGCAAGAATT CAGGGATCGG TCTGGAAACT 180  
 GTGTTCCCTG CAACCAGTGT GGGCCAGGCA TGGAGTTGTC TAAGGAATGT GGCTTCGGCT 240  
 ATGGGGAGGA TGCACAGTGT GTGACGTGCC GGCTGCACAG GTTCAAGGAG GACTGGGGCT 300  
 25 TCCAGAAATG CAAGCCCTGT CTGGACTGCG CAGTGGTGAA CCGCTTTCAG AAGGCAAATT 360  
 GTTCAGCCAC CAGTGATGCC ATCTGCGGGG ACTGCTTGCC AGGATTTTAT AGGAAGACGA 420  
 AACTTGTCGG CTTTCAAGAC ATGGAGTGTG TGCCTTGTGG AGACCCTCCT CCTCCTTACG 480

```

AACCGCACTG TGCCAGCAAG GTCAACCTCG TGAAGATCGC GTCCACGGCC TCCAGCCCAC 540
GGGACACGGC GCTGGCTGCC GTTATCTGCA GCGCTCTGGC CACCGTCCTG CTGGCCCTGC 600
TCATCCTCTG TGTCATCTAT TGTAAGAGAC AGTTTATGGA GAAGAAACCC AGCTGGTCTC 660
TGCGGTCACA GGACATTTCAG TACAACGGCT CTGAGCTGTC GTGTCTTGAC AGACCTCAGC 720
5 TCCACGAATA TGCCACACAGA GCCTGCTGCC AGTGCCGCCG TGACTCAGTG CAGACCTGCG 780
GGCCGGTGCG CTGCTCCCA TCCATGTGCT GTGAGGAGGC CTGCAGCCCC AACCCGGCGA 840
CTCTTGTTG TGGGGTGCAT TCTGCAGCCA GTCTTCAGGC AAGAAACGCA GGCCAGCCG 900
GGGAGATGGT GCCGACTTTC TTCGGATCCC TCACGCAGTC CATCTGTGGC GAGTTTTTCAG 960
ATGCCTGGCC TCTGATGCAG AATCCCATGG GTGGTGACAA CATCTCTTTT TGTGACTCTT 1020
10 ATCCTGAACT CACTGGAGAA GACATTCATT CTCTCAATCC AGAACTTGAA AGCTCAACGT 1080
CTTTGGATTG AAATAGCAGT CAAGATTTGG TTGGTGGGGC TGTCCAGTC CAGTCTCATI 1140
CTGAAAACCT TACAGCAGCT ACTGATTTAT CTAGATATAA CAACACACTG GTAGAATCAG 1200
CATCAACTCA GGATGCACTA ACTATGAGAA GCCAGCTAGA TCAGGAGAGT GCGCTATCA 1260
TCCACCCAGC CACTCAGACG TCCCTCCAGG TAAGGCAGCG ACTGGGTTC CTGTGAACAC 1320
15 AGCACTGACT TACAGTAGAT CAGAACTCTG TTCCCAGCAT AAGATTTGGG GGAACCTGAT 1380
GAGTTTTTTT TTTGCATCTT TAATAATTTT TTGTATGTTG TAGAGTATGT TTTAAAATAA 1440
ATTTCAAGTA TTTTTTTTAA AACTAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAA 1496

```

配列番号 : 8

20 配列の長さ : 1 4 9 6

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 一本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : cDNA to mRNA

25 起源

生物名 : Homo Sapiens

セルライン : HAS303

## 配列の特徴

特徴を表す記号：CDS

存在位置：45..1313

特徴を決定した方法：P

5

特徴を表す記号：sig peptide

存在位置：45..119

特徴を決定した方法：S

10 特徴を表す記号：mat peptide

存在位置：120..1313

特徴を決定した方法：S

## 配列

GGGAACGTAG AACTCTCCAA CAATAAATAC ATTTGATAAG AAAG ATG GCT TTA AAA 56

15

Met Ala Leu Lys

-25

GTG CTA CTA GAA CAA GAG AAA ACG TTT TTC ACT CTT TTA GTA TTA CTA 104

Val Leu Leu Glu Gln Glu Lys Thr Phe Phe Thr Leu Leu Val Leu Leu

-20

-15

-10

20 GGC TAT TTG TCA TGT AAA GTG ACT TGT GAA ACA GGA GAC TGT AGA CAG 152

Gly Tyr Leu Ser Cys Lys Val Thr Cys Glu Thr Gly Asp Cys Arg Gln

-5

1

5

10

CAA GAA TTC AGG GAT CGG TCT GGA AAC TGT GTT CCC TGC AAC CAG TGT 200

Gln Glu Phe Arg Asp Arg Ser Gly Asn Cys Val Pro Cys Asn Gln Cys

25

15

20

25



	GGG CCA GGC ATG GAG TTG TCT AAG GAA TGT GGC TTC GGC TAT GGG GAG	248
	Gly Pro Gly Met Glu Leu Ser Lys Glu Cys Gly Phe Gly Tyr Gly Glu	
	30 35 40	
	GAT GCA CAG TGT GTG ACG TGC CGG CTG CAC AGG TTC AAG GAG GAC TGG	296
5	Asp Ala Gln Cys Val Thr Cys Arg Leu His Arg Phe Lys Glu Asp Trp	
	45 50 55	
	GGC TTC CAG AAA TGC AAG CCC TGT CTG GAC TGC GCA GTG GTG AAC CGC	344
	Gly Phe Gln Lys Cys Lys Pro Cys Leu Asp Cys Ala Val Val Asn Arg	
	60 65 70 75	
10	TTT CAG AAG GCA AAT TGT TCA GCC ACC AGT GAT GCC ATC TGC GGG GAC	392
	Phe Gln Lys Ala Asn Cys Ser Ala Thr Ser Asp Ala Ile Cys Gly Asp	
	80 85 90	
	TGC TTG CCA GGA TTT TAT AGG AAG ACG AAA CTT GTC GGC TTT CAA GAC	440
	Cys Leu Pro Gly Phe Tyr Arg Lys Thr Lys Leu Val Gly Phe Gln Asp	
15	95 100 105	
	ATG GAG TGT GTG CCT TGT GGA GAC CCT CCT CCT CCT TAC GAA CCG CAC	488
	Met Glu Cys Val Pro Cys Gly Asp Pro Pro Pro Pro Tyr Glu Pro His	
	110 115 120	
	TGT GCC AGC AAG GTC AAC CTC GTG AAG ATC GCG TCC ACG GCC TCC AGC	536
20	Cys Ala Ser Lys Val Asn Leu Val Lys Ile Ala Ser Thr Ala Ser Ser	
	125 130 135	
	CCA CGG GAC ACG GCG CTG GCT GCC GTT ATC TGC AGC GCT CTG GCC ACC	584
	Pro Arg Asp Thr Ala Leu Ala Ala Val Ile Cys Ser Ala Leu Ala Thr	
	140 145 150 155	
25	GTC CTG CTG GCC CTG CTC ATC CTC TGT GTC ATC TAT TGT AAG AGA CAG	632
	Val Leu Leu Ala Leu Leu Ile Leu Cys Val Ile Tyr Cys Lys Arg Gln	
	160 165 170	

	TTT ATG GAG AAG AAA CCC AGC TGG TCT CTG CGG TCA CAG GAC ATT CAG	680
	Phe Met Glu Lys Lys Pro Ser Trp Ser Leu Arg Ser Gln Asp Ile Gln	
	175 180 185	
	TAC AAC GGC TCT GAG CTG TCG TGT CTT GAC AGA CCT CAG CTC CAC GAA	728
5	Tyr Asn Gly Ser Glu Leu Ser Cys Leu Asp Rro Arg Gln Leu His Glu	
	190 195 200	
	TAT GCC CAC AGA GCC TGC TGC CAG TGC CGC CGT GAC TCA GTG CAG ACC	776
	Tyr Ala His Arg Ala Cys Cys Gln Cys Arg Arg Asp Ser Val Gln Thr	
	205 210 215	
10	TGC GGG CCG GTG CGC TTG CTC CCA TCC ATG TGC TGT GAG GAG GCC TGC	824
	Cys Gly Pro Val Arg Leu Leu Pro Ser Met Cys Cys Glu Glu Ala Cys	
	220 225 230 235	
	AGC CCC AAC CCG GCG ACT CTT GGT TGT GGG GTG CAT TCT GCA GCC AGT	872
	Ser Pro Asn Pro Ala Thr Leu Gly Cys Gly Val His Ser Ala Ala Ser	
15	240 245 250	
	CTT CAG GCA AGA AAC GCA GGC CCA GCC GGG GAG ATG GTG CCG ACT TTC	920
	Leu Gln Ala Arg Asn Ala Gly Pro Ala Gly Glu Met Val Pro Thr Phe	
	255 260 265	
	TTC GGA TCC CTC ACG CAG TCC ATC TGT GGC GAG TTT TCA GAT GCC TGG	968
20	Phe Gly Ser Leu Thr Gln Ser Ile Cys Gly Glu Phe Ser Asp Ala Trp	
	270 275 280	
	CCT CTG ATG CAG AAT CCC ATG GGT GGT GAC AAC ATC TCT TTT TGT GAC	1016
	Pro Leu Met Gln Asn Pro Met Gly Gly Asp Asn Ile Ser Phe Cys Asp	
	285 290 295	
25	TCT TAT CCT GAA CTC ACT GGA GAA GAC ATT CAT TCT CTC AAT CCA GAA	1064
	Ser Tyr Pro Glu Leu Thr Gly Glu Asp Ile His Ser Leu Asn Pro Glu	
	300 305 310 315	

CTT GAA AGC TCA ACG TCT TTG GAT TCA AAT AGC AGT CAA GAT TTG GTT 1112  
 Leu Glu Ser Ser Thr Ser Leu Asp Ser Asn Ser Ser Gln Asp Leu Val  
 320 325 330  
 GGT GGG GCT GTT CCA GTC CAG TCT CAT TCT GAA AAC TTT ACA GCA GCT 1160  
 5 Gly Gly Ala Val Pro Val Gln Ser His Ser Glu Asn Phe Thr Ala Ala  
 335 340 345  
 ACT GAT TTA TCT AGA TAT AAC AAC ACA CTG GTA GAA TCA GCA TCA ACT 1208  
 Thr Asp Leu Ser Arg Tyr Asn Asn Thr Leu Val Glu Ser Ala Ser Thr  
 350 355 360  
 10 CAG GAT GCA CTA ACT ATG AGA AGC CAG CTA GAT CAG GAG AGT GGC GCT 1256  
 Gln Asp Ala Leu Thr Met Arg Ser Gln Leu Asp Gln Glu Ser Gly Ala  
 365 370 375  
 ATC ATC CAC CCA GCC ACT CAG ACG TCC CTC CAG GTA AGG CAG CGA CTG 1301  
 Ile Ile His Pro Ala Thr Gln Thr Ser Leu Gln Val Arg Gln Arg Leu  
 15 380 385 390 395  
 GGT TCC CTG TGAACACAG CACTGACTTA CAGTAGATCA GAACTCTGTT CCCAGCATAA 1362  
 Gly Ser Leu  
 GATTTGGGGG AACCTGATGA GTTTTTTTTT TGCATCTTTA ATAATTTCTT GTATGTTGTA 1422  
 GAGTATGTTT TAAAATAAAT TTCAAGTATT TTTTTTAAAA ACTAAAAAAA AAAAAAAAAA 1482  
 20 AAAAAAAAAA AAAA 1496

配列番号 9

配列の長さ : 3 5

配列の型 : 核酸

25 鎖の数 : 一本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列

CGATTGAATT CTAGACCTGC CTCGAGNNNN NNNNN

配列番号 1 0

配列の長さ : 2 8

5 配列の型 : 核酸

鎖の数 : 一本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列

AGAAAGATGG CTTTAAAAGT GCTACTAG

10

## 請求の範囲

1. 実質的に純粋な形である配列番号 1 または 5 で示されるアミノ酸配列から  
5 なるポリペプチド、そのホモログ、そのフラグメントまたはそのフラグメント  
のホモログからなるポリペプチド。
2. 配列番号 1 または 5 で示されるアミノ酸配列からなる請求の範囲 1 記載の  
ポリペプチド。
- 10 3. 請求の範囲 1 に記載されたポリペプチドをコードする DNA。
4. 配列番号 2 または 6 で示される塩基配列を有する請求の範囲 3 記載の DN  
A、またはその配列に選択的にハイブリダイズするフラグメントからなる DNA。
- 15 5. 配列番号 3 または 7 で示される塩基配列を有する請求の範囲 3 記載の DN  
A、またはその配列に選択的にハイブリダイズするフラグメントからなる DNA。
6. 請求の範囲 3 から 5 のいずれかの項に記載の DNA からなる複製または発  
20 現ベクター。
7. 請求の範囲 6 記載の複製または発現ベクターで形質転換された宿主細胞。
8. 請求の範囲 1 または 2 に記載されたポリペプチドを発現させるための条件  
25 下で請求の範囲 7 記載の宿主細胞を培養することからなる該ポリペプチドの製造  
方法。

9. 請求の範囲 1 または 2 に記載されたポリペプチドのモノクローナルまたはポリクローナル抗体。

10. 請求の範囲 1 または 2 に記載されたポリペプチドまたは請求の範囲 9 記載の抗体および薬学的に許容される賦形剤および／または担体を含有することを特徴とする薬学的組成物。

OAF065	1	-----	MALKVLEQE	KTFF--TLLV	LLGYLSCKVT	CETGDCRQOE	38
hTNFR1	1	-MGLSTVPDL	LLPLVLELL	VGIYPSGVIG	LVPHLGDREK	RDSV-CPQ GK	48
hTNFR2	1	---MAPVAV	WAALAVGLEL	WAAA--HALP	AQVAFTPYAP	EPGSTCRLRE	44
hNGFR	1	-----	--MGAGATGR	AMDG--PRLL	LLLLLLGVSLG	GAKEACPTGL	36
hFas	1	MLGIWTLPL	VLTSVARLSS	KSVN--AQVT	DINSKGLELR	KTVTTVETQN	48
*							
OAF065	39	FRDRSGNCVP	CNQ-CGPGME	LSKECGFGYG	EDAQCVCRL	HR-FK-EDWG	85
hTNFR1	49	YIHPQNNSIC	CTK-CHKGTY	LYNDGP-GPG	QDTDCRECES	GS-FTASENH	95
hTNFR2	45	YDQTAQ-MC	CSK-CSPGQH	AKVFC--TKT	SDTVCDSCED	ST-YT-QLWN	88
hNGFR	37	Y-THSGEC--	CKA-CNLGEG	VAQPCGANQT	VCEPCLD-SV	TF-SD-VVSA	79
hFas	49	LEGLHHDGQF	CHKPCPPGER	KARDCTVN-G	DEPDCVPCQE	GKEYT-DKAH	96
* * *							
OAF065	86	F-QKCKPCLD	-CAVVNRQ-	KANCATSDA	ICGDCLPGFY	...	122
hTNFR1	96	L-RHCLSCSK	-CRKEMGQVE	ISSCTVDRDT	VCG-CRKNQY	...	132
hTNFR2	89	WVPECLSCGS	RCSSDQVE--	TQACTREQNR	IC-TCRPGWY	...	125
hNGFR	80	T-EPCKPCTE	-CVGLQSM--	SAPCVEADDA	VC-RCAYGY	...	114
hFas	97	FSSKCRRCRL	-CDEGHGLEV	EINCTRTQNT	KC-RCKPNFF	...	134

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**



## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP98/00799

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl.<sup>6</sup> C12N15/12, C07K14/47, C07K14/52, C07K14/705, C12N1/19, C12N1/21, A61K38/17, A61K39/395 // C12P21/02, C12P21/08,

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl.<sup>6</sup> C12N15/12, C07K14/47, C07K14/52, C07K14/705, C12N1/19, C12N1/21, A61K38/17, A61K39/395, C12P21/02, C12P21/08

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

GenBank/EMBL/DBJ (GENETYX), BIOSIS (DIALOG), WPI (DIALOG)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
PA	Blood, Vol. 90, No. 10, p.310a, 1378 (1997), A. Gotoh et al., "Stromal Cell derived factor-1 suppresses cytokine-induced adhesion to immobilized fibronectin through activation of G-coupled protein in human hematopoietic progenitor cells"	1-10
A	Journal of Cellular Biochemistry, Vol. 45, p.273-278 (1991), Peter Quesenberry et al., "Long-Term Marrow Cultures: Human and Murine Systems"	1-10



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

\*

Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T"

later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X"

document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y"

document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&amp;"

document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

May 15, 1998 (15. 05. 98)

Date of mailing of the international search report

June 9, 1998 (09. 06. 98)

Name and mailing address of the ISA/

Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP98/00799

A. (Continuation) CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

(C12N1/19, C12R1:645), (C12N1/21, C12R1:19)

## A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. C1<sup>°</sup> C12N 15/12, C07K 14/47, C07K 14/52, C07K 14/705,  
C12N 1/19, C12N 1/21, A61K 38/17, A61K 39/395//C12P 21/02,  
C12P 21/08, (C12N 1/19, C12R 1:645), (C12N 1/21, C12R 1:19)

## B. 調査を行った分野

## 調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. C1<sup>°</sup> C12N 15/12, C07K 14/47, C07K 14/52, C07K 14/705,  
C12N 1/19, C12N 1/21, A61K 38/17, A61K 39/395, C12P 21/02,  
C12P 21/08

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

## 国際調査で使用了電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

GenBank/EMBL/DBJ (GENETYX), BIOSIS (DIALOG),  
WPI (DIALOG)

## C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
PA	Blood, Vol. 90, No. 10, p. 310a, 1378(1997), A. Gotoh et al. "Stromal Cell derived factor-1 suppresses cytokine-induced adhesion to immobilized fibronectin through activation of G-coupled protein in human hematopoietic progenitor cells"	1-10
A	Journal of Cellular Biochemistry, Vol. 45, p. 273-278(1991), Peter Quesenberry et al. "Long-Term Marrow Cultures: Human and Murine Systems"	1-10

☐ C欄の続きにも文献が列挙されている。

☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

## \* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの  
「E」先行文献ではあるが、国際出願日以後に公表されたもの  
「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)  
「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献  
「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの  
「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの  
「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの  
「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

15.05.98

国際調査報告の発送日

09.06.98

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)

郵便番号 100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

齊藤 真由美

印

4B

9637

電話番号 03-3581-1101 内線 3449

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**